

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1

ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК

КИЕВ — 1984

20 days) rats after administration of testicular antibodies (in the form of class G immunoglobulin) used for simulation of autoimmunization from the moment when due to certain reasons autoantibodies appear in the organism. It is stated that in the blood serum of mature rats there are autoantibodies to the tissue of the testis, liver, kidney, lungs, spleen. In old rats the amount of autoantibodies to the testis tissue is higher; besides, autoantibodies to the brain tissue are found. Structural HTB components in animals reach by the 28th-30th day the same maturity as in 5-7-month animals. In old rats all components are structurally varied. Testicular antibodies in the IgG form (high doses) evoke damage in structural HTB elements and spermatogenesis disturbance in rats of all age groups irrespective of the differentiation degree and functional state of the barrier, which testifies to the functional plasticity of the latter.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev;
Belgrade University, Yugoslavia

Список литературы

1. Зайченко А. П. Аутоімунні реакції проти ДНК у людей різного віку. — Фізіол. журн., 1976, 22, № 5, с. 660—665.
2. Зеленская Т. М. Эндокринные взаимоотношения и тестикулярные антитела. — Киев: Наук. думка, 1981.—146 с.
3. Зеленская Т. М., Ильевич Н. В., Нищименко О. В. Иммуноглобулины тестикулярной антисыворотки и их действие на органы-эфффекторы. — Физиол. журн., 1982, 28, № 4, с. 434—441.
4. Клемпарская Н. Н., Шальнова Г. А. Нормальные аутоантитела как радиозащитные факторы. — М.: Атомиздат, 1978.—135 с.
5. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет. — М.: Медицина, 1970.—182 с.
6. Соколовская И. И., Милованов В. К. Иммунология воспроизведения животных. — М.: Колос, 1981.—263 с.
7. Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В., Барченко Л. И., и др. Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы. — К.: Наук. думка, 1977.—216 с.
8. Ступина А. С., Межиборская Н. А., Шапошников В. М. и др. Ультраструктурные изменения гисто-гематических барьеров при старении. — В кн.: Гисто-гематические барьеры и нейро-гуморальная регуляция. — М.: Наука, 1981, с. 208—214.
9. Chudomel V., Cezhova Z., Lybansky. K metodice stanoveni profilatek proti leukocytum (Test spotreby komplementu). — Unitri Lek., 1957, 3, p. 215—221.
10. Flodin P., Killander J. Fractionation of human serum proteins by gell-filtration. — Biochem. acta, 1962, 63, N 3, p. 403—410.
11. Grabar P. Hypothesis. Auto-antibodies and immunological theories; an analytical review. — Clin. Immunol. and Immunopathol., 1975, 4, N 4, p. 463—466.
12. Kuznetsova N. L., Sorokina I. N. The effect of antibodies against brain tissue on the intracerebral penetration of drugs. — Excerpta Med., 1969, 3, N 3, p. 112—116.
13. Leblond C. P., Clermont J. Spermogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin, sulfuric acid technique. — Amer. J. Anat., 1952, 90, N 2, p. 167—215.
14. Lowry O. H., Rosenbrough N. G., Farr A. L., Randall R. G. Protein measurement with the folin phenol reagent. — J. Biol. Chem., 1951, 193, N 2, p. 265—275.
15. Zelenskaya T. M., Stosić N., Pantić V. et al. Reaction of immature rat testes and prostate on 7^s immunoglobuline isolated from antitesticular cytotoxic serum. — Folia morphologica, 1981, 29, N 2, p. 124—127.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев; Белградский ун-т

Поступила 28.06.83

УДК 612.112:616.155.3

Ю. И. Бажора, В. П. Буйко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ В НОРМЕ И ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ

Важными звеньями гомеостаза человеческого организма, осуществляющими борьбу с инфекционными агентами, являются факторы неспецифической защиты и иммунитета [11]. Процесс становления этих звеньев в онтогенезе довольно сложный и начал изучаться сравнительно недавно в связи с возникновением новых идей и разработкой принци-

пально новых методов в области иммунологии [7, 9, 17]. Особый интерес представляют исследования различных реакций неспецифической защиты и иммунитета у детей первого года жизни, поскольку в этот период они более чувствительны к инфекциям, которые нередко вызывают осложнения и склонны к генерализации.

Целью нашей работы было исследовать функциональное состояние гранулоцитов — клеточного фактора неспецифической защиты и содержание различных популяций лимфоцитов — участников основных им-

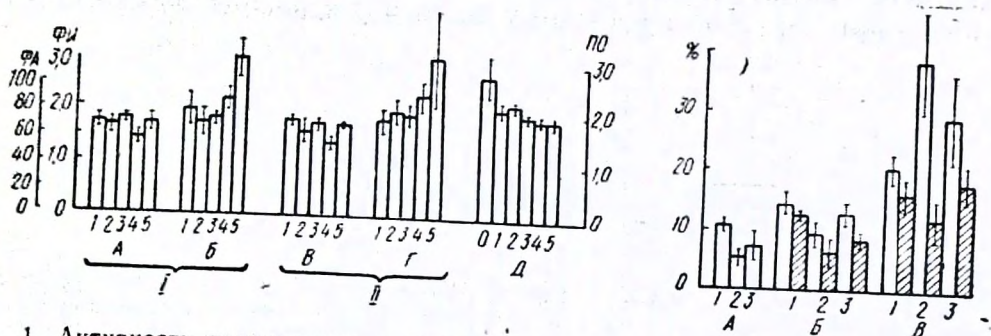


Рис. 1. Активность пероксидазы и реакция заверщенного и незавершенного фагоцитоза гранулоцитов периферической крови у детей первого года жизни.

По горизонтали: I — незавершенный фагоцитоз; II — заверщенный фагоцитоз; AB — фагоцитарная активность, БГ — фагоцитарный индекс, Д — активность пероксидазы; О — взрослые здоровые люди; 1-5 — дети до одного года; 1 — контроль, 2 — разгар ОРВИ без осложнений, 3 — выздоровление, 4 — разгар ОРВИ с бактериальными осложнениями, 5 — выздоровление. По вертикали: ФА — фагоцитарная активность в %, ФИ — фагоцитарный индекс; ПО — средний цитохимический коэффициент активности пероксидазы.

Рис. 2. Спонтанный NBT-тест в норме, при вирусной и бактериальной инфекциях в онтогенезе.

По горизонтали: А — контроль; Б — ОРВИ без осложнений; В — ОРВИ с бактериальными осложнениями. Белые столбики — разгар заболевания; заштрихованные — выздоровление. 1 — дети первого года жизни; 2 — дети 1-7 лет; 3 — взрослые (20-45 лет). По вертикали: число NBT-положительных клеток в %.

мунных реакций в периферической крови детей первого года жизни, сопоставить полученные результаты с аналогичными показателями у детей более старшего возраста и взрослых людей, а также рассмотреть изучаемые тесты в динамике при неосложненных и осложненных острых респираторных вирусных инфекциях (ОРВИ).

Методика. Функциональное состояние гранулоцитов оценивали по реакции незавершенного и заверщенного фагоцитоза с учетом фагоцитарной активности (ФА) и фагоцитарного индекса (ФИ) [2]. Параллельно цитохимическим методом в гранулоцитах определяли активность пероксидазы [3], ставили реакцию с нитроголубым тетразолием без стимулятора — «спонтанный» NBT-тест [1] и в аналогичных условиях «стимулированный» NBT-тест, где стимулятором *in vitro* служили убитые нагреванием бактерии (*staphylococcus aureus*). Взвесь бактерий готовили на физиологическом растворе (рН 7,2) из расчета 500 млн/мл, которую добавляли в инкубационную смесь вместо фосфатного буфера.

Содержание Т-, В- и О-лимфоцитов определяли цитохимическим методом в реакции на кислую фосфатазу, что упрощает трудоемкость этих сложных тестов у маленьких детей и дает надежные результаты [21].

Всего было обследовано три группы детей (161 ребенок) в возрасте от 1 до 12 мес: I—61 здоровый ребенок (контрольная группа); II—43 больных ОРВИ; III—57 больных — ОРВИ, осложненных бактериальной инфекцией. Кроме того, в аналогичных группах для изучения сравнительной характеристики указанных показателей функциональной активности клеток обследовали 36 детей в возрасте от 1 до 7 лет и 105 взрослых людей в возрасте от 20 до 45 лет. Все больные обследованы в разгаре заболевания (1-3 день болезни) и в периоде реконвалесценции (7-10 день).

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что у здоровых детей первого года жизни реакции незавершенного и заверщенного фагоцитоза не отличаются от наблюдаемых у людей зрелого возраста (рис. 1). Активность пероксидазы гранулоцитов у взрослых существенно повышается по сравнению с детьми раннего возраста. В то же время динамика NBT-теста носит противоположный характер (рис. 2). Наибольшее число NBT-положительных клеток в

норме обнаружено у детей до 1 года, в возрасте от 1 до 7 лет содержание их снижается почти вдвое и к зрелому возрасту снова повышается, однако существенных различий в последнем случае не выявлено.

При острой вирусной инфекции у детей до одного года фагоцитарная активность зернистых лейкоцитов как в реакции незавершенного, так и завершенного фагоцитоза значительных изменений не претерпевает, и какой-либо динамики в результате проведенного лечения не наблюдается. Нет существенных изменений и в активности пероксидазы гранулоцитов. Число клеток, редуцирующих NBT-краситель в формаза при вирусной инфекции у детей и у взрослых, увеличивается,

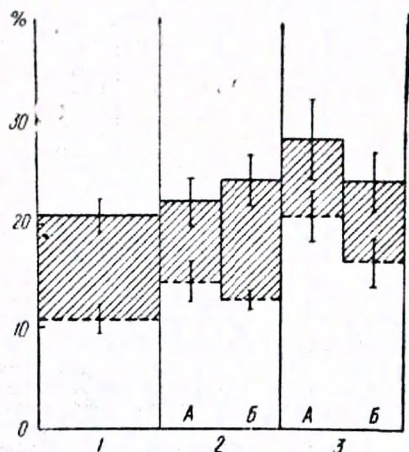


Рис. 3. Фагоцитарный резерв гранулоцитов крови у детей первого года жизни по данным NBT-теста.

По горизонтали: 1 — здоровые, 2 — ОРВИ, 3 — бактериальная инфекция. А — разгар заболевания, Б — выздоровление. По вертикали: число NBT-положительных клеток в %. Сплошная линия — стимулированный, пунктирная линия — «спонтанный» тест; косая штриховка — фагоцитарный резерв.

однако не выходит за пределы 15 %, а у детей 1—7 лет — за пределы 10 %, т. е. верхней границы нормы (рис. 2). При выздоровлении больных число NBT-положительных клеток снижается до контрольного уровня.

Бактериальные осложнения ОРВИ приводят к значительным изменениям фагоцитарной системы зернистых лейкоцитов. Так, у детей до одного года существенно понижается фагоцитарная активность клеток (по данным незавершенного и завершенного фагоцитоза), которая, однако, восстанавливается к периоду реконвалесценции. Параллельно снижается активность пероксидазы гранулоцитов. Фагоцитарный же индекс в этих случаях увеличивается и при повторных исследованиях на фоне выздоровления продолжает нарастать.

Таким образом, при осложнении ОРВИ бактериальной инфекцией у детей до одного года на фоне снижения числа активных клеток увеличивается их поглотительная и переваривающая функция. При этом число клеток, спонтанно редуцирующих NBT, возрастает по сравнению с контролем в группе взрослых в 4 раза, у детей от 1 до 7 лет — более чем в 7 раз, у детей грудного возраста — в 2 раза.

При ликвидации очагов бактериальной инфекции в организме показатель спонтанного NBT-теста существенно снижается, но ни в одной обследованной группе не возвращается к контрольному уровню.

Результаты исследований свидетельствуют, что у детей до одного года при четко выраженной клинически и подтвержденной лабораторно бактериальной инфекции способность гранулоцитов к спонтанной редукции NBT не носит такого разительного всплеска, как у детей более старшего возраста и у взрослых людей. Не наблюдается также резкого снижения спонтанной редукции после проведенного лечения. Использование реакции «стимулированного» NBT-теста показало, что у здоровых детей этой группы дополнительная стимуляция гранулоцитов *in vitro* приводит к значительному увеличению NBT-положительных клеток (рис. 3). Это указывает на выраженный фагоцитарный резерв клеток. При вирусной инфекции фагоцитарный резерв гранулоцитов снижается ($p < 0,05$), что, возможно связано с некоторой стимуляцией клеток *in vivo*, а это приводит к увеличению спонтанной редукции NBT *in vitro*. В периоде выздоровления фагоцитарный

резерв возвращается к норме ($p > 0,5$). При бактериальных осложнениях ОРВИ дополнительная стимуляция клеток *in vitro* вызывает увеличение числа активных клеток, но фагоцитарный резерв остается достоверно ниже, чем у здоровых детей этого же возраста ($p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у детей первого года жизни зернистые лейкоциты функционально активны, что подтверждается высокими цифрами незавершенного и завершенного фагоцитоза. Это согласуется с существующим мнением о том, что неспецифические факторы резистентности филогенетически более древние и поэтому созревают в онтогенезе первыми [17].

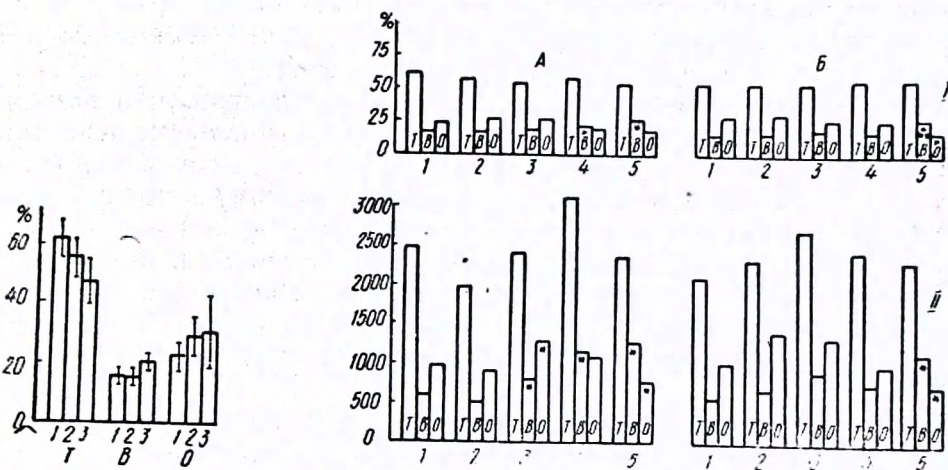


Рис. 4. Динамика различных популяций лимфоцитов периферической крови в онтогенезе.

По горизонтали: 1 — здоровые дети (1—12 мес), 2 — здоровые дети (1—7 лет), 3 — здоровые взрослые (20—45 лет). По вертикали: I — содержание клеток в %.

Рис. 5. Содержание Т-, В- и О-лимфоцитов у детей первого года жизни в норме и при патологии.

По горизонтали: А — дети 1—6 мес; Б — дети 7—12 мес; 1 — здоровые, 2 — разгар ОРВИ без осложнений; 3 — выздоровление; 4 — разгар ОРВИ с бактериальными осложнениями; 5 — выздоровление. По вертикали: I — содержание клеток в %; II — абсолютное число клеток в мл крови. * — достоверные различия по сравнению с контролем; ** — по сравнению с исходным уровнем.

В настоящее время зернистые лейкоциты рассматривают как сложную фагоцитарную систему [14, 19, 20], в состав которой входят такие важные компоненты как неферментные катионные белки, лизосомальные ферменты, пероксидаза, различные формы активированного кислорода, иод и другие. Поэтому возникает необходимость изучения отдельных составных частей этой системы как с целью выявления возможных дефектов, так и их становления в процессе онтогенеза. Наши исследования, в частности, показали, что у детей до одного года активность пероксидазы гранулоцитов достоверно ниже, чем у взрослых людей. Важным показателем функционального состояния гранулоцитов крови, количественно отражающим суммарную функцию клетки, является NBT-тест [4, 5, 8, 19]. Применяемые в клинике другие методы изучения метаболизма гранулоцитов характеризуют лишь отдельные звенья сложной бактерицидной системы. Исследования показали, что у новорожденных детей и в течение первого месяца жизни содержание NBT-положительных клеток больше, чем у взрослых. Однако, при стимуляции *in vitro* содержание активных клеток меньше, чем в аналогичных условиях у взрослых [15].

Наши данные, полученные при обследовании детей в возрасте от 1 до 12 мес, аналогичны.

На основании изложенных результатов можно предположить, что период адаптации к факторам окружающей среды, в том числе и антигенным, у детей происходит в течение всего первого года жизни. Это подтверждает более низкий фагоцитарный резерв гранулоцитов не только у новорожденных, но и у детей 1—12 мес по сравнению со взрослыми людьми, а также установленное нами относительно низкое содер-

жание NBT-положительных клеток при клинически выраженной картине бактериальной инфекции.

В ходе онтогенеза существенные изменения претерпевает и иммунная система, особенно в первый год жизни ребенка. Проведенные нами исследования показали, что у детей в возрасте от 7 до 12 мес снижается число Т-лимфоцитов и соответственно увеличивается число 0-лимфоцитов по сравнению с детьми первого полугодия жизни (рис. 4). У взрослых людей эта тенденция усиливается — отмечаются достоверные различия в содержании Т- и В-клеток у взрослых людей и у детей 1—6 мес. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями [6], и их необходимо учитывать при интерпретации результатов изучения иммунного статуса у детей первого года жизни как в норме, так и при различных заболеваниях.

Нами обнаружены и различия в динамике содержания популяций лимфоцитов при заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии у детей первого и второго полугодия жизни (рис. 5). Так у детей в возрасте от 1 до 6 мес при ОРВИ несколько уменьшается абсолютное число Т-, В- и 0-лимфоцитов в разгаре заболевания, при выздоровлении существенно увеличивается абсолютное количество В- и 0-лимфоцитов. При бактериальной инфекции уже в разгаре заболевания значительно повышается как процентное, так и абсолютное число В-лимфоцитов ($p < 0,05$), и содержание их продолжает нарастать на фоне выздоровления.

Увеличение числа В-клеток, очевидно, идет за счет 0-лимфоцитов, так как процентное и особенно абсолютное содержание их падает. У детей 7—12 мес возраста при ОРВИ соотношение изучаемых популяций лимфоцитов в процентных и абсолютных величинах не изменяется. Недостоверное увеличение абсолютных чисел клеток при заболевании, очевидно, связано с характерным для вирусной инфекции лимфоцитозом. Усиленная пролиферация лимфоидных клеток у детей-дошкольников — явление физиологическое, тесно связанное со становлением иммунитета у ребенка.

При бактериальной инфекции в разгаре заболевания также не наблюдается значительных изменений этих величин, лишь на фоне клинического выздоровления существенно увеличивается содержание В-лимфоцитов при одновременном снижении уровня 0-лимфоцитов ($p < 0,05$).

Некоторое снижение числа циркулирующих Т- и В-лимфоцитов при вирусной инфекции в разгаре присоединившихся бактериальных осложнений у детей первого года жизни, возможно, связано с неспецифическим угнетением иммунологической реактивности, вызванной вирусным антигеном [16, 17, 18].

Установленное нами снижение относительного числа Т-лимфоцитов в онтогенезе человека и параллельное нарастание числа 0-лимфоцитов подтверждают данные литературы о такой закономерности [12]. Относительное и абсолютное содержание нулевых клеток у детей в возрасте 1—6 и 7—12 мес возрастает при выздоровлении от вирусной и снижается при бактериальной инфекциях. Объяснить это явление представляется затруднительным, так как роль 0-лимфоцитов при патологии только начинает изучаться. Кроме того, следует учитывать, что сама популяция 0-лимфоцитов весьма гетерогенная и включает в себя истинно нулевые клетки, К-клетки и другие [13].

Таким образом, у детей первого года жизни и у взрослых функциональное состояние гранулоцитов отличается, что существенно сказывается на их активности при вирусных и бактериальных инфекциях. В течение первого года жизни содержание различных популяций лимфоцитов в периферической крови детей не меняется. При вирусных и бактериальных инфекциях динамика перераспределения их относительного содержания и абсолютное число несколько отличаются и имеют свои особенности у детей первого и второго полугодия жизни.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF FUNCTIONAL
ACTIVITY OF HUMAN BLOOD LEUKOCYTES IN NORM
AND UNDER INFECTIOUS PATHOLOGY (AGE ASPECT)

The functional state of granulocytes and contents of different populations of lymphocytes were investigated in the peripheral blood of healthy and sick (with complicated and noncomplicated ARVI) babies of the 1st year of life. It is shown that the preparative and digestive capacity of granulocytes in healthy babies is high enough, but at this age granulocytes do not reach complete maturity especially during bacterial complications of viral infections. Low peroxidase activity of these cells is observed, too. Redistribution of the T-, B- and O-cell percentage takes place with age: the number of T-cells reduces, the number of O-cells increases. The absolute number of various lymphocyte populations decreases in babies of first six months with viral infections at the climax of the disease, and when recovering the absolute number of B- and O-lymphocytes increases. A considerable growth of B-lymphocytes is observed if a complication by bacterial infection is added. No changes of such a kind are observed in babies of the second six months.

Department of Pediatrics, Medical Institute, Odessa

Список литературы

1. Бажора Ю. И., Протченко П. З., Тимошевский В. Н., Головченко А. Н. Упрощенный метод NBT-теста. — Лаб. дело, 1981, № 4, с. 198—199.
2. Берман В. М., Славская Е. М. Завершенный фагоцитоз. — Журн. микробиологии, 1958, № 3, с. 8—13.
3. Бутенко З. А., Глузман Д. Ф., Зак К. П. и др. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов. — Киев: Наук. думка, 1974. — 244 с.
4. Драгомирецкий В. Д., Бажора Ю. И. NBT-тест и его значение в клинической практике. — Журн. ушных, носовых и горловых болезней, 1983, № 1, с. 79—84.
5. Клиническая иммунология: Доклад группы экспертов. — М.: ВОЗ, 1976.
6. Лісний Е. П., Болек А. С., Пастер Е. У., Ходоровська С. Д. Вивчення функціональної активності Т- і В-лімфоцитів крові у дітей першого року життя методом розтокутворення. — Педіатрія, акушерство і гінекологія, 1978, № 3, с. 12—13.
7. Макинодан Т., Гуд Р., Кей М. Клеточные основы иммуностарения. — В кн.: Иммунология и старение / Под ред. Т. Макинодана, Э. Юниса. М.: Мир, 1980, с. 22—39.
8. Маянский А. Н., Пазюк Е. А., Макарова Т. П. и др. Механизм и диагностические возможности реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами человека. — Казан. мед. журн., 62, № 4, с. 64—67.
9. Михайлова З. М., Михеева Г. А. Иммунобиологическая реактивность детского организма. — М.: Медицина, 1974. — 240 с.
10. Нагоев Б. С., Шубич М. Г. Значение теста восстановления нитросинего тетразолия для изучения функциональной активности лейкоцитов. — Лаб. дело, 1981, № 4, с. 148—151.
11. Петров Р. В., Хаитов Р. М. Иммунологические механизмы клеточного гомеостаза. — В кн.: Гомеостаз / Под ред. П. Г. Горизонтова. М.: Медицина, 1976, с. 191.
12. Петров Р. В. Современные проблемы клинической иммунологии. — Сов. медицины, 1978, № 7, с. 8—15.
13. Петров Р. В., Халатян Н. А., Манько В. М., Лесков В. П. Лимфоциты, не несущие типичных маркеров Т- и В-клеток: характеристика и эффекторные функции. — Успехи совр. биологии, 1980, 90, № 1, с. 193—210.
14. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. — М.: Медицина, 1978.
15. Пикуза О. М., Гуревич Е. П. Особенности функциональной активности нейтрофилов у здоровых новорожденных по НСТ-тесту. — Вопр. охраны материнства и детства, 1983, 28, № 11, с. 14—15.
16. Семенов Б. Ф. Клеточные механизмы неспецифической модуляции иммунологической реактивности при вирусных инфекциях. — В кн.: Итоги науки и техники / ВИНТИ. Иммунология, 1982, т. 10, с. 102—116.
17. Сохин А. А. Иммунологическая реактивность и вакцинация детей раннего возраста. — Киев. Здоров'я, 1981. — 208 с.
18. Туйнов В. А., Коюкова С. А. О механизме снижения фагоцитарной активности нейтрофилов крови у больных гриппом. — Журн. микробиологии, 1980, № 7, с. 79—82.
19. Шубич М. Г., Нестерова И. В. Метаболические аспекты фагоцитоза в нейтрофильных гранулоцитах у детей раннего возраста. — Педіатрія, 1979, № 11, с. 22—28.
20. Klebanoff S. J. Myeloperoxidase — halide-hydrogen-peroxide antibacterial system. — J. Bacteriol., 1968, v. 95, N 6, p. 2131—2138.
21. Lisiewicz J., Dobrowolski J., Bryniak C. T-cells, B-cells and intermediate forms in the newborn studies by scanning electron microscopy and phosphatase marker. — Folia haematol. (Leipzig), 1976, 103, N 5, p. 620—630.

Каф. педиатрии Одес. мед. ин-та

Поступила 23.03.83