



Особенности нарушений микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов при сочетанных с малярией инфекциях у детей

Н.М. Ходжаева, Л.А. Бабаева, М.С. Фузайлова

Кафедра детских инфекционных болезней; пропедевтики детских болезней ТГМУ им. Абуали ибни Сино

В статье представлены результаты исследования состояния функционально-метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов у 164 больных детей с трёхдневной и тропической малярией, а также сочетанных с малярией инфекций: брюшной тиф, паратиф, кишечный гельминтоз и смешанная малярия (P.Vivax + P.Falciparum). Установлено, что при сочетании тропической малярии с брюшным тифом отмечаются наиболее существенные сдвиги микробицидной системы нейтрофилов, выражающиеся в угнетении миелопероксидазы, внутриклеточного катионного белка, гликогена и липидов, и высокие показатели кислой и щелочной фосфатазы, что свидетельствует о нарушении иммунных механизмов первой линии защиты. Длительное удерживание нарушений функции фагоцитов способствует пролонгированию течения болезни и развитию неблагоприятных исходов, что может быть использовано для прогнозирования течения микст-патологии и формирования бессимптомного паразитоза.

Ключевые слова: трёхдневная и тропическая малярия, микробицидная система нейтрофилов, микст-патология

Актуальность. При малярии, как и при любой другой инфекционной болезни, наряду с патогенным воздействием возбудителя, которое определяется его специфическим тропизмом, на особенности развития инфекционного процесса влияют защитные реакции хозяина. Возбудитель тропической малярии – P.Falciparum – в организме человека вызывает каскад иммунопатологических реакций, способных дезорганизовать иммунный ответ и вызывать грозные осложнения [1-4]. Одними из первых клеточных элементов внутренней среды, мобилизуемых организмом в защитных целях в борьбе с возбудителями инфекционных заболеваний, являются нейтрофильные лейкоциты. Важная роль отводится их функциональному состоянию, прежде всего, фагоцитарной активности, которую они осуществляют с помощью своей сложной внутриклеточной системы [5,6]. Функциональный потенциал нейтрофильных гранулоцитов, осуществляющих первую линию антимикробной защиты, во многом определяет течение и исход воспалительного процесса [7,8]. Активация нейтрофилов происходит при действии различных факторов, в том числе иммунных комплексов, наличие которых характерно для малярийной инфекции.

Недостаточная изученность механизмов реагирования иммунокомпетентных клеток первой линии защиты на внедрение паразитарных антигенов послужила основанием для проведения данной работы.

Цель исследования: проведение клинико-лабораторной оценки функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов при малярийной инфекции и определение возможности применения основных показателей состояния их микробицидной системы для выработки дополнительных критериев тяжести процесса, прогноза развития неблагоприятных исходов.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 164 ребёнка с трёхдневной и тропической малярией в возрасте 4-14 лет, из них с моноинфекцией – 80 больных, 66 – с сочетанной патологией и 18 пациентов – со смешанной малярией (P.Vivax + P.Falciparum), госпитализированных в Детскую и Городскую клинические инфекционные больницы г. Душанбе, а также в Центральную районную больницу А.Джами Хатлонской области Республики Таджикистан в 2003-2006 гг. Диагноз малярии верифицирован обнаружением возбудителей при микроскопическом исследовании периферической крови.

Определение катионного белка в лейкоцитах проводили по методике М.Г.Шубича (1974) в модификации Б.С.Нагоева (1983), миелопероксидазы – по A.Sato (1925), гликогена – по А.Л.Шабадашу (1947), кислой фосфатазы – с помощью реакции азосочетания по Goldberg и Barka (1962) в модификации В.И. Дудецкого (1970). Динамика исследуемых показателей


ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА ИНТРАЛЕЙКОЦИТАРНЫХ КОМПОНЕНТОВ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ТРЁХДНЕВНОЙ МАЛЯРИИ И СОЧЕТАННЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Группа обследов.	Периоды болезни	n	Исследуемый показатель					
			Миелопероксидаза		Катионный белок		Гликоген	
			M ± m	P	M ± m	P	M ± m	P
Трёхдневная малярия	Здоровые	30	198,4±1,1	-	118,0±1,8	-	164,0±1,6	-
	Разгар	45	179,7±1,3	<0,001	88,4±2,0	<0,05	149,2±2,1	<0,05
	Ранняя реконвалесц.	45	188,8±1,6	<0,001	90,8±1,3	<0,05	151,4±2,1	<0,05
	Поздняя реконвалесц.	38	196,1±1,4	>0,05	104,1±2,5	>0,05	161,1±2,5	>0,05
Трёхдневная малярия с брюшным тифом	Разгар	10	158,0±1,1	<0,001	76,4±1,6	<0,001	140,1±2,1	<0,01
	Ранняя реконвалесц.	10	161,2±1,2	<0,001	82,8±1,3	<0,001	146,0±2,6	<0,01
	Поздняя реконвалесц.	10	162,6±0,8	<0,001	89,4±1,2	<0,001	149,8±2,2	<0,01
Трёхдневная малярия с паратифом В	Разгар	8	163,8±1,2	<0,001	80,1±1,2	<0,001	146,2±2,2	<0,01
	Ранняя реконвалесц.	8	166,2±1,1	<0,001	83,8±1,6	<0,001	148,0±2,1	>0,01
	Поздняя реконвалесц.	8	174,5±1,3	<0,001	92,2±1,4	<0,01	151,4±1,2	>0,01
Трёхдневная малярия и тропическая малярия	Разгар	18	174,9±1,2	<0,01	82,1±1,2	<0,001	146,2±2,2	<0,01
	Ранняя реконвалесц.	18	182,4±1,1	<0,01	90,1±1,1	>0,01	150,9±1,2	>0,01
	Поздняя реконвалесц.	18	191,5±1,6	>0,01	93,7±1,2	>0,01	155,4±1,4	>0,01
Трёхдневная малярия с гельминтозом	Разгар	18	180,6±2,1	>0,01	84,±2,3	<0,05	147,0±3,2	<0,05
	Ранняя реконвалесц.	18	186,7±1,4	>0,01	89,4±1,6	>0,05	150,2±2	>0,05
	Поздняя реконвалесц.	18	189,3±1,7	>0,01	92,8±1,1	>0,05	152,1±2,1	<0,01

Примечание: P – статистическая значимость различий по отношению к больным трёхдневной малярией в соответствующие периоды болезни

у больных изучалась в зависимости от периода заболевания. Группой контроля служили 30 практически здоровых детей (для сравнения вышеуказанных показателей при моноинфекции). Кроме того, для выявления статистической значимости уровень интралейкоцитарных компонентов при сочетанной патологии сравнивался с моноинфекцией. Все больные были сопоставимы по возрасту и формам тяжести болезни, срокам госпитализации в инфекционные отделения. Статистическая обработка материала проводилась с использованием программы «Biostat-6».

Результаты и их обсуждение. Показатели интралейкоцитарных компонентов микробицидной системы лейкоцитов у больных трёхдневной малярией с сочетанной патологией представлены в таблицах 1 и 2.

Из таблиц 1 и 2 видно, что при трёхдневной малярии в сочетании с тифо-паратифозными заболеваниями отмечено более выраженное увеличение активности

кислой и щелочной фосфатаз (82,3±1,2 и 35,2±1,4 усл.ед., соответственно, против 78,2±3,0 и 30,6±1,9 усл.ед. при моноинфекции, p<0,05 и p<0,001, соответственно) при одновременном значительном угнетении активности миелопероксидазы (158,0±1,1 усл.ед. против 179,7±1,3 усл.ед. при моноинфекции, p<0,001), уменьшении содержания катионного белка (76,4±1,6 усл.ед. против 88,4±2,0 усл.ед., p<0,001), гликогена (140,1±2,1 усл.ед. против 149,2±2,1 усл.ед., p<0,01) и липидов (206,0±1,4 усл.ед. против 216,0±2,5 усл.ед., p<0,001) на всех стадиях заболевания по сравнению с больными без сопутствующих болезней. Следует отметить, что исследуемые показатели у больных малярией в периоде поздней реконвалесценции приближаются к норме, в то время как у больных с сочетанной патологией продолжают существенно отличаться от нормальных показателей.

Представляет интерес динамика показателей микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов

ТАБЛИЦА 2. ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ТРЁХДНЕВНОЙ МАЛЯРИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОЧЕТАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Группа обследов.	Стадии болезни	n	Исследуемый показатель					
			Кислая фосфатаза		Щелочная фосфатаза		Липиды	
			M±m	P	M±m	P	M±m	P
Трёхдневная малярия	Здоровые	30	56,6±1,5	-	21,3±2,1	-	232,0±1,3	-
	Разгар	45	78,2±3,0	<0,001	30,6±1,9	<0,05	216,0±2,5	<0,001
	Ранняя реконвалесц.	45	68,6±2,5	<0,05	28,8±1,3	<0,001	219,4±2,0	<0,05
	Поздняя реконвалесц.	38	59,4±2,1	<0,05	22,1±2,3	<0,05	227,9±3,1	<0,05
Трёхдневная малярия с брюшным тифом	Разгар	10	82,3±1,2	<0,05	35,2±1,4	<0,001	206,0±1,4	<0,001
	Ранняя реконвалесц.	10	79,8±1,4	<0,001	33,8±1,1	<0,001	214,8±2,2	<0,01
	Поздняя реконвалесц.	10	70,5±1,8	<0,001	29,6±1,2	<0,001	218,7±1,5	<0,01
Трёхдневная малярия с паратифом В	Разгар	8	81,9±1,2	<0,001	32,1±1,4	<0,01	211,4±2,1	<0,001
	Ранняя реконвалесц.	8	78,4±1,3	<0,001	30,6±2,1	<0,01	216,2±1,2	<0,001
	Поздняя реконвалесц.	8	68,2±1,1	<0,01	26,0±1,2	>0,05	220,1±1,1	<0,05
Трёхдневная малярия и тропическая малярия	Разгар	18	79,1±1,2	>0,05	31,6±1,2	>0,05	215,1±1,3	>0,05
	Ранняя реконвалесц.	18	70,2±1,1	<0,01	29,4±1,1	>0,05	217,8±1,1	>0,05
	Поздняя реконвалесц.	18	67,3±1,4	<0,01	26,6±1,5	>0,05	224,4±1,6	<0,01
Трёхдневная малярия с гельминтозом	Разгар	18	76,1±1,2	<0,001	29,1±1,3	>0,05	214,1±1,2	<0,01
	Ранняя реконвалесц.	18	71,9±1,4	<0,05	28,2±1,1	>0,05	216,7±1,1	<0,01
	Поздняя реконвалесц.	18	65,7±1,3	>0,05	23,9±1,4	<0,01	220,8±1,2	<0,01

при смешанной малярии и сопутствующими гельминтозами. Изучаемые показатели претерпевают аналогичные изменения как и при сочетании с брюшным тифом и паратифом В, но менее выражены. Это можно объяснить более продолжительной бактериемией и эндотоксинемией, характерной для грамтрицательных инфекций, приводящих к гиперактивации макрофагов, ответственных за выработку провоспалительных факторов и активных форм кислорода, способствующих угнетению микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов и цитотоксической активности естественных киллеров.

Из таблицы 2 видно, что достоверных различий в показателях функционально-метаболической активности нейтрофильных гранулоцитов (кислая и щелочная фосфатаза, липиды) между смешанной малярией и моноинфекцией не выявлено (79,1±1,2 усл.ед., 31,6±1,2 усл.ед. и 215,1±1,3 усл.ед., соответственно, против 78,2±3,0 усл.ед., 30,6±1,9 усл.ед. и 216,0±2,5 усл.ед., соответственно, при моноинфекции, $p > 0,05$), очевидно, в связи с более благоприятным клиническим течением смешанных малярийных инфекций.

Динамика показателей внутриклеточных компонентов микробицидной системы нейтрофилов при тропической малярии также выявила определённые закономерности. Так, практически во все периоды болезни происходило угнетение активности миелопероксидазы (166,7±1,5 против 198,4±1,1 усл.ед. – у здоровых), снижение содержания интралейкоцитарного катионного белка (78,4±1,2 против 118,0±1,8 усл.ед. – у здоровых), липидов (176,4±1,6 против 232,0±1,3 усл.ед. – у здоровых), гликогена (119,9±1,4 против 164±1,6 усл.ед. – у здоровых). Активность кислой и щелочной фосфатаз, напротив, повышалась (87,2±1,2 и 38,6±1,3 усл.ед., соответственно, против 56,6±1,5 и 21,3±2,1 усл.ед. – у здоровых). В периоде поздней реконвалесценции большинство названных показателей имели тенденцию к восстановлению, но не достигали нормальных величин ($p < 0,05$). Угнетение микробицидной активности нейтрофилов при тропической малярии, очевидно, связано со сложным генотипом *P.falciparum*, что является важным фактором, усугубляющим иммунный ответ хозяина. К этому следует добавить воздействие различных цитокинов, оказывающих токсическое



действие на функциональную активность внутриклеточных компонентов клеток крови, и развитие аутоиммунных механизмов повреждения органов-мишеней в ходе инфекционного процесса. Необходимо отметить, что исследуемые показатели при тропической малярии восстанавливались медленно и определённые нарушения сохранялись в периоде поздней реконвалесценции.

При сочетанном течении тропической малярии и брюшного тифа на всех стадиях заболевания наблюдалась более выраженная активность кислой и щелочной фосфатаз ($89,3 \pm 1,2$ и $40,2 \pm 1,4$ усл.ед., соответственно), в то время как активность миелопероксидазы ($156,0 \pm 0,2$ усл.ед.), содержание катионного белка ($75,1 \pm 1,3$ усл.ед.), гликогена ($124,0 \pm 2,5$ усл.ед.) и липидов ($94,0 \pm 1,4$ усл.ед.) были значительно снижены по сравнению с аналогичными показателями основной группы больных. Если при моноинфекции исследуемые показатели у больных в периоде поздней реконвалесценции приближались к норме, то у пациентов с микст-инфекцией продолжали существенно отличаться от нормальных величин. При сочетании тропической малярии с кишечными гельминтозами повышение уровня фосфатаз и угнетение интралейкоцитарных компонентов микробицидной системы было менее выраженным, чем при моноинфекции. Это согласуется с мнением некоторых авторов об определённом «защитном действии» кишечных гельминтов в отношении развития специфических осложнений малярии, что, по-видимому, в этих случаях обусловлено активацией гуморального звена иммунитета с возрастанием метаболизма CD 23/NO [3].

Таким образом, комплексное исследование микробицидной системы нейтрофильных лейкоцитов при трёхдневной малярии выявило неспецифический характер изменений их цитохимического статуса. Во всех группах обследованных выявлено относительное угнетение активности миелопероксидазы, снижение содержания катионного белка, гликогена и липидов, в то время как активность щелочной и кислой фосфатаз была повышена. Максимальные отклонения цитохимических показателей от нормы наблюдались на высоте патологического процесса. В динамике заболевания параллельно угасанию клинических симптомов происходило постепенное повышение активности миелопероксидазы, увеличение содержания катионного белка, гликогена и липидов, снижение активности щелочной и кислой фосфатаз с нормализацией изученных показателей к периоду реконвалесценции. Существенные сдвиги в содержании всех компонентов микробицидной системы нейтрофилов отмечены у больных трёхдневной малярией с брюшным тифом и паратифом В и менее значительные изменения – у больных со смешанной малярией и сопутствующими гельминтозами.

Выявленные на ранних стадиях развития трёхдневной малярии нарушения показателей первой линии иммунологической защиты с их быстрым восстановлением могут свидетельствовать о доброкачественном процессе, о чём свидетельствуют преобладание лёгких и среднетяжёлых форм заболевания (54,7 и 35,1%, соответственно), а также установленная нами ранее адекватность иммунного ответа, выражающаяся в механизмах образования циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), обеспечивающих быстрое связывание антигенов плазмодия, преимущественно антителами класса IgM с образованием крупных комплексов, легко элиминирующихся макрофагальной системой, и, что немаловажно, Th-1 тип иммунологического реагирования. Совокупность всех этих механизмов обеспечивало развитие инфекционного процесса без риска возникновения осложнённых форм и летальных исходов.

При тропической малярии также были выявлены изменения цитохимических показателей нейтрофильных гранулоцитов: значительное угнетение активности миелопероксидазы, снижение содержания катионного белка, гликогена и липидов, в то время как активность щелочной и кислой фосфатаз была повышена. В динамике заболевания, параллельно угасанию клинических симптомов, происходило постепенное повышение активности миелопероксидазы, увеличение содержания катионного белка, гликогена и липидов, снижение активности щелочной и кислой фосфатаз, но, как правило, не достигающих контрольных величин в периоде поздней реконвалесценции, в отличие от трёхдневной малярии. При микст-инфекции максимальные сдвиги в содержании всех компонентов микробицидной системы нейтрофилов отмечены у больных тропической малярией в сочетании с брюшным тифом, в то время как у больных с сопутствующими гельминтозами они были менее выраженными.

Удерживающиеся длительные нарушения микробицидной активности нейтрофилов крови могут свидетельствовать о риске развития тяжёлых, осложнённых форм болезни и формирования бессимптомного паразитоносительства, что подтверждается клиническими наблюдениями и установленной депрессией клеточно-гуморальных факторов защиты.

Следовательно, показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови могут быть использованы в качестве дополнительных критериев оценки тяжести и прогноза малярии.



ЛИТЕРАТУРА

1. Лысенко А.Я. Маляриология / А.Я. Лысенко, А.В. Кондрашин, М.Н. Ежов // Копенгаген. – 2003. – 510 с.
2. Клиническое значение показателей клеточного и гуморального иммунитета при тропической малярии / Н.Д. Никифоров [и др.] // Клиническая медицина. – 2000. – №2. – С. 33-35
3. Попов А.Ф. Малярия / А.Ф. Попов, А.К. Токмалаев, Н.Д. Никифоров // – М., – 2004. – 271с.
4. Славинский А.А. Цитохимическая характеристика нейтрофилов крови у больных экссудативным средним отитом / А.А. Славинский, В.Ф. Семёнов // Физиология и патология иммунной системы: тезисы I Всероссийской конф. по иммунотерапии, Сочи. – 2003. – Т.5. – №2. – С.243-244
5. Абидов М.Т. Иммуномодулятор галавит: этапы создания и перспективы применения /М.Т. Абидов// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2000. Прил.3. – С.11-20
6. Баранова А.М. Малярия: возврат через 40 лет после ликвидации /А.М. Баранова // Качество жизни. Медицина. – 2005. – №1 (8). – С. 51-57
7. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге /А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский // – Новосибирск. Наука. – 1983. – 256с.
8. Нагоев Б.С. Очерки о нейтрофильном гранулоците /Б.С. Нагоев // Нальчик. – 1986. –86с.

Summary

Features of microbicidal system violations of neutrophilic granulocytes in infections combined with malaria in children

N.M. Khodjaeva, L.A. Babaeva, M.S. Fuzaylova

In the article presented the results of research the functional metabolic activity of neutrophilic granulocytes in 164 children with three-day and falciparum malaria, and combined with malaria infections: typhoid fever, paratyphoid fever, intestinal helminthiasis and mixed malaria (P.Vivax + P.Falciparum). Combination of tropical malaria with typhoid fever marked the most significant changes in microbicidal system of neutrophils lead to inhibition of myeloperoxidase, intracellular cationic protein, glycogen and lipids, and high rates of acid and alkaline phosphatases, indicating about disturbances in immune mechanisms of the first line protection. Long-term retention of functional disorders of phagocytes contributes to prolongation of the disease and development of adverse outcomes that can be used to predict the currency of mixed pathology and the formation of asymptomatic parasite carriers.

Key words: three-day and tropical malaria, microbicidal system of neutrophils, mixed-pathology

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Н.М. Ходжаева – профессор кафедры детских инфекционных болезней ТГМУ, Таджикистан, Душанбе, пр. Рудаки, 39
E-mail: nigina51@rambler.ru