**Миграционная активность лейкоцитов в условиях нормы и при диффузных заболеваниях соединительной ткани**

А.В.Пизов – кандидат биологических наук, ассистент кафедры методики преподавания естественно-математических дисциплин в начальной школе Ярославского государственного педагогического университета им.К.Д.Ушинского; В.Н.Левин – доктор медицинских наук, профессор, зав.кафедрой МБОС Ярославского государственного педагогического университета им.К.Д.Ушинского.

В последние годы внимание специалистов всё больше привлекает изучение функциональных свойств таких клеток крови как лейкоциты, к которым относятся гранулоциты, моноциты и лимфоциты. Лейкоциты играют главную роль в развитии воспаления (C. Rosales et al., 1995). Воспаление может быть острым или хроническим, однако в процессе развития воспалительной реакции, как правило, наблюдаются признаки обоих форм воспаления.

Несмотря на то, что роль лейкоцитов в защите организма известна ещё со времен работ И. И. Мечникова в 1892 году, а каждый вид лейкоцитов имеет свои характерные особенности и свою уникальную роль в защите, детали и механизмы исполнения лейкоцитами, их функций пока изучены неполно.

Ценность любой фагоцитарной реакции в её скорости, опережающей развитие микробного или иного повреждения. Перемещение лейкоцитов в пространстве относится к числу наиболее характерных признаков белых клеток крови. У лейкоцитов достаточно хорошо выражены обе основные формы клеточного движения – ненаправленная, или случайная миграция, и направленная, или хемотаксис.

В литературе встречаются работы о целенаправленном движении фагоцитов – хемотаксисе ( N.D.Tan et al., 1995). Первыми были работы S. Boyden (1962), показавшего способность лейкоцитов к активной миграции. Активное перемещение в пространстве характерно для большинства клеток белой крови, однако наиболее характерно для нейтрофилов (А.Н.Маянский и соавт., 1989; R.A.Erger et al., 1995).

Двигательная активность лейкоцитов изменяется при различных заболеваниях. Так, выявлено значительное нарастание миграционной способности белых клеток крови у больных в острой фазе воспаления, а при таких состояниях, как агранулоцитоз, отмечено снижение двигательной активности. Нарушение хемотаксиса происходит при ряде врожденных заболеваний фагоцитарной системы: синдроме Чедиака-Хигаси, синдроме Швахмана-Диамонд, болезни накопления гликогена, дефиците специфических гранул нейтрофилов; а также вторичных (приобретенных) иммунодефицитных состояниях, развивающихся при ожоговой болезни, диабете, злокачественных заболеваниях, у больных с хроническими вирусными (СПИД, грипп, герпес и др.) и грибковыми инфекциями.

Изучение миграционной способности белых клеток крови способствует расширению знаний об активных свойствах лейкоцитов и отражает их функциональные возможности при протекающих в организме патологических процессах.

**Материал и методы исследования**

Объектом исследования служила кровь из локтевой вены, взятая у 36 больных с диффузным заболеванием соединительной ткани. Все больные – женщины в возрасте от 30 до 44 лет. Средний возраст на момент обследования составил 37 лет.

Оценка степени активности болезни (обострение – ремиссия) у пациентов СКВ проводилась согласно критериям В.А.Насоновой (1972; “Ревматические болезни”, 1997) в соответствии с выраженностью клинических симптомов и уровнем лабораторных показателей.

Контрольную группу составили 10 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Миграционную активность лейкоцитов оценивали в тесте миграции на стеклянных пластинках под агаром ( Т.Ф. Соколова и соавт., 1983; T.E.Clausen, 1971; R.D.Nelson et al., 1975).

Суспензию клеток вносили в две лунки агарового геля (из расчёта 7-10х105 клеток в каждую лунку), который предварительно готовили следующим образом: 15 мг агарозы добавляли в стерильную воду (5 мл), кипятили в течение 20 минут на водяной бане, охлаждали до 45 С. Пять миллилитров питательной среды № 199, предварительно нагретой до 45 С, смешивали с агарозным гелем и полученную агаровую среду заливали на стеклянные пластинки. После застывания агара в нём пробойником делали 3 одинаковые лунки диаметром 2,5 мм и глубиной – 2,0-2,5 мм: две, контрольную и опытную, для суспензии лейкоцитов, третью - для хематтрактанта. После этого стеклянные пластинки помещали во влажную камеру, где клетки культивировали в течение 18 часов при 37 С в атмосферном воздухе с 5% содержанием СО2. Затем препараты фиксировали 1,5 часа 2,5% раствором глутарового альдегида. После этого агар удаляли, клетки окрашивали азур II-эозином. Делали микрофото и определяли площадь миграции лейкоцитов. В качестве хематтрактанта использовали аутологичную сыворотку крови, малый фрагмент сывороточного комплемента которой (С5а) является сильным хемотаксическим фактором для лейкоцитов.

Определяли следующие величины: А - площадь миграции лейкоцитов в контрольной лунке (спонтанная двигательная активность); Б - площадь перемещения белых клеток крови в опытной лунке (стимулированная миграция). Кроме этого, вычисляли следующие показатели: Б-А – хемотаксическая разница.

**Результаты и их обсуждение**

Как было указано выше, способность белых клеток крови к миграции играет важную роль в воспалительных реакциях организма за счёт поступления лейкоцитов в очаг воспаления. Нарушение этого процесса снижает резистентность к инфекции и способствует её распространению.

В ходе исследования определяли площадь спонтанной и стимулированной миграции лейкоцитов у практически здоровых лиц и у больных ДЗСТ в периоды обострения и ремиссии основного патологического процесса.

В группе практически здоровых лиц средняя величина спонтанной миграции лейкоцитов составляла 4,4 0,3 мм2 и колебалась от 2,3 до 5,5 мм2, средняя площадь стимулированной миграции составляла 4,4 0,2 мм2.

Площадь спонтанной миграции лейкоцитов при ДЗСТ в период обострения в среднем была равна 6,5  2,2 мм2, варьируя от 3,3 до 28,8 мм2. В 90,9% случаев площадь миграции составляла 8,4 мм2. Площадь стимулированной миграции лейкоцитов у больных ДЗСТ составляла 5,9  1,6 мм2. Максимальная площадь при этом соответствовала 21,5 мм2, минимальная – 1,7 мм2. В большинстве случаев (81,8%) площадь стимулированной миграции занимала 5,7 мм2.

При ДЗСТ отмечалась более интенсивная спонтанная миграционная способность лейкоцитов (p<0,05) по сравнению с группой контроля – площадь миграции у больных в среднем увеличивалась на 2,1 мм2.

При ДЗСТ в период обострения площадь стимулированной миграции лейкоцитов (S 1 = 5,9 мм2 ) в среднем уменьшалась на 0,6 мм2 по сравнению с площадью спонтанной миграции лейкоцитов (S 2 = 6,5 мм2). При ДЗСТ отмечается достоверное увеличение площади спонтанной миграции лейкоцитов по сравнению с группой практически здоровых лиц (p<0,05), что, вероятно, связано с нарушением активных свойств лейкоцитов в период обострения.

Таким образом, при ДЗСТ в период обострения наблюдается достоверное увеличение площади спонтанной миграции лейкоцитов. Однако площадь стимулированной миграции лейкоцитов в ответ на действие хематтрактанта (сыворотка крови) при ДЗСТ не имела достоверных различий по сравнению с практически здоровыми лицами.

В период ремиссии основного патологического процесса площадь спонтанной миграции лейкоцитов у больных ДЗСТ в среднем составляла 7,1  1,9 мм2. Максимальный размер площади спонтанной миграции в этот период составлял 23,9 мм2, минимальный - 1,2 мм2. В 72,7% случаев площадь миграции варьировала в пределах 1,2 - 5,7 мм2. В период ремиссии основного патологического процесса отмечалось достоверное увеличение площади спонтанной миграции по сравнению с контрольной группой в среднем на 2,7 мм2 (p<0,05), что являлось отражением более усиленной спонтанной миграционной активности клеток белой крови у пациентов ДЗСТ.

Площадь стимулированной миграции при ДЗСТ в период ремиссии основного патологического процесса в ответ на действие хематтрактанта в среднем была равна 7,0  1,6 мм2. Максимальная площадь миграции лейкоцитов при этом составляла 17,9 мм2, минимальная - 0,5 мм2. В 55% случаев площадь стимулированной миграции была зарегистрирована в пределах 3,9 - 7,5 мм2. У больных ДЗСТ в период ремиссии основного патологического процесса отмечалось достоверное увеличение площади, занимаемой лейкоцитами в ходе стимулированной миграции (p<0,05), что могло свидетельствовать о большей выраженности этого процесса в данной группе.

При ДЗСТ в период ремиссии площадь, занимая лейкоцитами при стимулированной миграции, в среднем уменьшилась на 0,1  2,4 мм2 по сравнению с площадью при спонтанной миграции.

Таким образом, по данным изучения миграционной активности лейкоцитов при ДЗСТ в период ремиссии основного патологического процесса видно, что эти больные имеют достоверные различия по размерам площадей, занимаемых лейкоцитами как при спонтанной, так и при стимулированной миграции по сравнению с контрольной группой, что отражает более активную способность клеток белой крови к миграционным процессам. Площадь, занимаемая лейкоцитами в ходе спонтанной и стимулированной миграции, в период ремиссии была достоверно больше (p<0,05), чем площадь миграции лейкоцитов при обострении (рисунок 1).

1– средняя площадь спонтанной миграции, мм2;

2– средняя площадь стимулированной миграции, мм2.

Рисунок 1

При изучении хемотаксических свойств лейкоцитов наблюдалось усиление миграции лейкоцитов как при обострении, так и при ремиссии основного патологического процесса по сравнению с группой здоровых лиц. Площадь распространения белых клеток крови при спонтанной миграции была достоверно выше при обострении процесса (6,5 2,2 мм2). По достижении ремиссии наблюдалось дальнейшее увеличение площади спонтанной миграции лейкоцитов (7,1 1,9 мм2) по сравнению с контрольной группой (4,4 0,3 мм2). Такая же закономерность наблюдалась и при исследовании стимулированной миграции лейкоцитов: с переходом обострения в стадию ремиссии стимулированная миграция достоверно увеличивалась с 5,9 1,6 мм2 до 7,0 1,6мм2, достоверно отличаясь (p<0,05) от группы здоровых лиц (4,4 0,2 мм2).

В то же время была определена взаимосвязь между субпопуляциями лейкоцитов и их миграционной активностью. Увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов в период обострения сопровождалось увеличением площади при спонтанной миграции лейкоцитов (r=0,7720, p<0,05). В период ремиссии в условиях ДЗСТ также выявлена статистическая взаимосвязь между площадью стимулированной миграции и количеством палочкоядерных нейтрофилов (r=0,9848, p<0,05). Таким образом, выявленная взаимосвязь между количеством нейтрофилов и увеличением площади миграции свидетельствует о зависимости двигательной активности нейтрофилов от функционального состояния этих субпопуляций белых клеток крови.

Таким образом, дезорганизация соединительной ткани, происходящая у больных ДЗСТ, сопровождается нарушениями функциональных свойств нейтрофильных гранулоцитов, которые проявляются в изменении миграционной активности. Выявленные нарушения функций являются следствием морфофункциональных изменений лейкоцитов у пациентов с ДЗСТ по сравнению с практически здоровыми лицами.

**Список литературы**

Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.-Новосибирск: Наука, 1989.- 254 с.

Мечников И.И., Акад. собр. соч. – М., 1950. – Т.6.

Насонова В.А. Системная красная волчанка.-М.: Медицина, 1972.-248 с.

Ревматические болезни. Руководство для врачей. / Под ред. В.А.Насоновой, Н.В.Бунчука.- М.: Медицина, 1997.- 520 с.

Соколова Т.Ф., Редькин Ю.В. Изучение спонтанной миграционной активности лейкоцитов под агаровым покрытием. // Лаб. дело.- 1983.- N 1.- С. 31-33.

Boyden S.The chemotactic of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes.// J. exp. Med.-1962.-Vol. 115.-P. 453-466.

Clausen J.E. Tuberculin-induced migration inhibition of human peripheral leucocytes in agarose medium. // Acta Allerg. – 1971.- V 26.- P. 56-61.

Erger R.A., Casale T.B. Comparative studies indicate that platelet-activating factor is a relatively weak eosinophilotactic mediator. // Am-J-Respir-Cell. Mo. Biol.- 1995.- Vol. 12, N 1.- P. 65- 70.

Nelson R.D., et al. Chemotaxis under agarose: a new and simpl method for measuring chemotaxis and spontanequs migration of human polymorphonuclean leukocytes and monocytes. // J. Immunol.-1975.- N 115.- P. 1650- 1656.

Rosales C., Juliano R.L. Signal transduction by cell adhesion receptors in leukocytes. // J. Leukoc. Biol.- 1995.- Vol. 57, N 2.- P. 189- 198.

Tan J., Deleuran B., Gesser B. et al. Regylation of human T lymphocyte chemotaхis in vitro by T cell-derived cytokines IL-2, IFN-gamma, IL-4, IL-10, and IL-13. // J. Immunol.- 1995.- Vol 154, N 8.- P. 3742- 3752.