

# **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

**ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК**

**КИЕВ — 1985**



24. Ray T. K. A modified method for the isolation of the plasma membrane from rat liver.— *Biochem. et biophys. acta*, 1970, 106, p. 1—9.
25. Rioli R. S. Thyroid hormone action at the cellular level.— *Adv. Enzyme Regul.*, 1970, 8, N 3, p. 239—241.
26. Willims A. F. Membrane glycoproteins in recognition.— *Biochem. Soc. Trans.*, 1978, 6, N 3, p. 490—494.

Львов. мед. ин-т

Поступила 14.02.84

УДК 611.21/23.576.8:097.3:616—053

В. П. Буйко, Ю. И. Бажора

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ ЗАЩИТЫ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ

Морфологическая и функциональная целостность слизистых оболочек верхних дыхательных путей — важнейший элемент первой линии защиты организма от инфекционных агентов. Именно здесь располагаются входные ворота для возбудителей острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), а в клетках эпителиальной выстилки дыхательного тракта репродуцируются вирусы, которые могут, преодолевая этот барьер, проникать лимфогенно в кровь и затем гематогенно достигать наиболее чувствительных к вирусу тканей [5].

В литературе, посвященной этому вопросу, накопилось достаточно сведений, раскрывающих роль различных факторов защиты, содержащихся в секретах слизистых оболочек — иммуноглобулинов, лизоцима, интерферона, ферментов [1, 3, 8].

Меньшее внимание уделяется клеточным элементам поверхности слизистых оболочек, а также клеткам, мигрирующим на ее поверхность, тогда как именно эти клетки являются одним из главных источников гуморальных факторов защиты.

Целью настоящей работы было исследование количественных и качественных показателей мазков-перепечатков с поверхности слизистой оболочки верхних дыхательных путей у взрослых людей и детей различного возраста в норме и при инфекционной патологии.

### Методика

Мазки-перепечатки получали со слизистой оболочки носа (на уровне нижних носовых раковин) и с поверхности миндалин с помощью разработанных нами устройств, рабочей поверхностью которых служил микропористый поролон. Это позволяло приготовить три качественных препарата без повреждения клеточных элементов. Один мазок фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому — Гимза для подсчета цитогрaмм. Остальные два мазка обрабатывали цитохимическими методами для выявления в полиморфноядерных лейкоцитах (ПЯЛ) активности пероксидазы (ПО) [2] и содержания катионных белков (КБ) [7]. При подсчете цитогрaмм учитывали эпителиальные клетки, ПЯЛ, лимфоциты, лимфобласты, макрофаги, плазматические клетки [3]. Активность ПО и содержание КБ оценивали полуквантитативным методом с вычислением среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по [2] и составлением гистограмм распределения клеток по степени их активности [6].

Всего обследовано 179 человек. Из них здоровых — 53, больных ОРВИ — 59, хроническим тонзиллитом — 42, острым тонзиллитом — 8, детей с гипертрофией миндалин — 11.

Обследованных разделяли для анализа на следующие возрастные группы: дети до 1 года, дети 1—3 лет, дети 4—9 лет и взрослые 20—40 лет.



Ведущее место в цитограммах мазков-перепечатков со слизистой носа у детей занимают клетки цилиндрического и плоского эпителия. Среди мигрирующих клеток крови преобладали полиморфноядерные лейкоциты (ПЯЛ), содержание макрофагов и лимфоцитов колебалось в пределах нескольких процентов, еще меньшее число составляли плазматические клетки и лимфоциты (рис. 1). Не выявлено

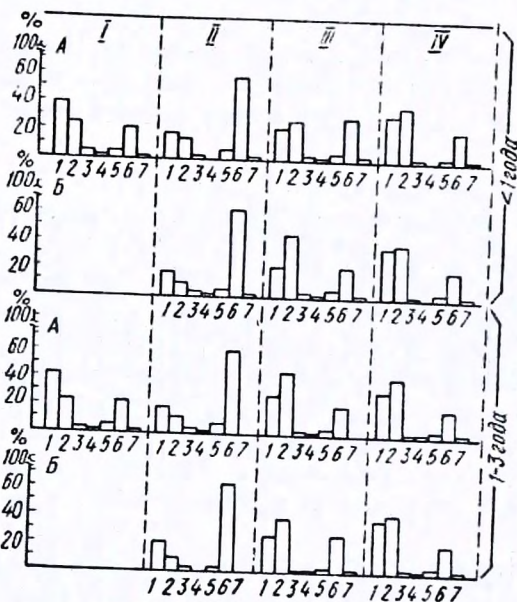
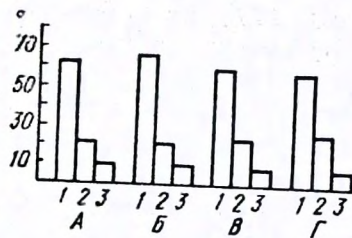


Рис. 1. Цитограмма мазков-перепечатков со слизистых оболочек верхних дыхательных путей в различных возрастных группах.

По вертикали: содержание клеток в %. По горизонтали: А — дети до 1 года; Б — от 1 до 3 лет; В — от 3 до 9 лет; Г — взрослые люди. 1 — эпителиальные клетки; 2 — гранулоциты; 3 — мононуклеары.

Рис. 2. Цитограммы мазков-перепечатков со слизистой носа у детей в норме и при вирусной инфекции.

I — здоровые дети; II — разгар заболевания; III — период выздоровления у детей, леченных без противовирусной терапии; IV — период выздоровления у детей, леченных с применением Е-АКК. А — при течении инфекции без токсических синдромов; Б — с токсическими синдромами. По вертикали: содержание клеток в %. По горизонтали: 1 — клетки цилиндрического эпителия; 2 — плоского эпителия; 3 — лимфоциты; 4 — лимфоциты; 5 — макрофаги; 6 — ПЯЛ; 7 — плазматические клетки.

существенных различий в характере цитограмм между детьми до одного года и более старшего возраста (1—3 года). Аналогичные результаты были получены в мазках-перепечатках со слизистых миндалин у детей 4—9 летнего возраста и взрослых людей. На основании этого можно предположить, что закономерности процессов слущивания эпителиальных клеток и миграции форменных элементов крови на поверхности слизистых оболочек верхних дыхательных путей едины для различных отделов дыхательного тракта и формируются на ранних стадиях онтогенеза. Подтверждением этому могут быть и результаты проведенных нами ранее цитологических исследований смывов с ротоглотки, полученных по методу М. А. Ясиновского [3].

Видимо, достаточная зрелость именно этого звена местного иммунитета у детей раннего возраста на фоне относительной незрелости других факторов (интерферон, секреторный иммуноглобулин А) и обеспечивает в данном периоде жизни человека основную барьерную функцию слизистых оболочек органов дыхания.

При наличии острого воспалительного процесса в области верхних дыхательных путей характер цитограмм существенно изменяется и имеет одинаковую направленность независимо от возраста, этиологического фактора и тяжести процесса, что проявляется в резком увеличении мигрирующих ПЯЛ на фоне относительного уменьшения содержания эпителиальных клеток (рис. 2). Это, очевидно, связано с по-



вышением проницаемости сосудов в районе очага воспаления и интенсификацией процесса миграции ПЯЛ.

На 7—10 день при клинической ликвидации острых воспалительных явлений цитоморфологическая картина во всех обследованных группах нормализуется. Однако среди эпителиальных элементов преобладают плоские клетки, тогда как в норме их меньше, чем клеток

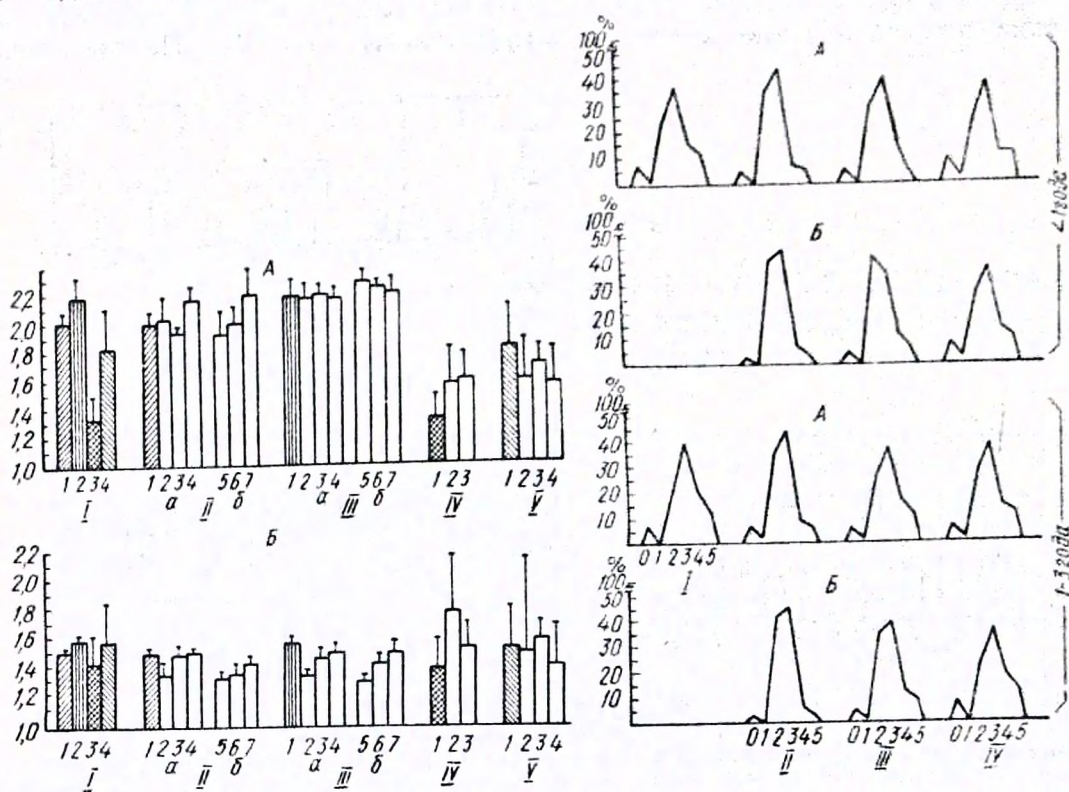


Рис. 3. Бактерицидные факторы ПЯЛ, эмигрировавших на поверхность слизистых оболочек верхних дыхательных путей в норме и при инфекционной патологии.

А — активность пероксидазы; Б — содержание катионных белков. По вертикали: уровень изученных показателей в условных единицах (СЭК). По горизонтали: I. Здоровые лица: 1 — дети до 1 года; 2 — от 1 до 3 лет; 3 — от 3 до 9 лет; 4 — взрослые люди. II. Дети с ОРВИ до 1 года. III. Дети с ОРВИ от 1 до 3 лет: 1 — здоровые дети; 2, 5 — разгар заболевания; 3, 6 — период выздоровления у детей, не леченных противовирусными средствами; 4, 7 — период выздоровления у детей, леченных у детей, не леченных противовирусными средствами; б — с токсическими синдромами. IV. Дети от 3 Е-АКК. а — заболевание без токсических синдромов; б — с гипертрофированными миндалинами. V. Взрослые люди: 1 — здоровые; 2 — больные острым; 3 — хроническим тонзиллитом; 4 — больные ОРВИ.

Рис. 4. Гистограммы распределения ПЯЛ по уровню содержания в них катионных белков у детей первых лет жизни в норме и при вирусной инфекции.

А — течение заболевания без токсических синдромов. Б — с токсическими синдромами: По вертикали: количество клеток в %. По горизонтали: I — здоровые дети; II — разгар болезни; III — период выздоровления у детей, не леченных противовирусными средствами; IV — период выздоровления на фоне местного воздействия Е-АКК. 0, 1, 2, 3, 4, 5 — степени насыщения ПЯЛ катионными белками

цилиндрического эпителия. Видимо, это является следствием цитотоксического действия вируса на цилиндрические клетки. Несостоятельность защитного слоя создает предпосылки для столь частых суперинфекций у детей раннего возраста. Повторяющиеся же ОРВИ способствуют задержке окончательного созревания носового эпителия. На этих незрелых участках слизистой создаются условия для сохранения низкого уровня местной защиты респираторного тракта, легкой травматизации, изъязвлений, способствующих повышенному пиноцитозу больших антигенных молекул, недостатка JgA и др. Закрепление порочного круга — одна из причин формирования группы часто болеющих детей раннего возраста [9, 10].

Местное применение ингибиторов протеолиза, в частности Е-аминокапроновой кислоты (Е-АКК), обладающей четким противовирусным действием, привело к восстановлению соотношения цилиндрического и плоского эпителия значительно быстрее, чем в контрольной группе нелеченных детей. Объясняется это, видимо, тем, что Е-АКК



почти вдвое сокращает период вирусного антигеноносительства [4], а значит и продолжительность его цитотоксического воздействия. Эффект от использования Е-АКК был равнозначным в группах больных ОРВИ с токсическими синдромами и без них.

При цитохимическом исследовании ПЯЛ в мазках-перепечатках обнаружено, что пероксидазная активность как у детей в возрасте до 3 лет, так и у взрослых (20—40 лет) достаточно высокая (рис. 3). В возрасте от 3 до 9 лет этот показатель существенно снижен. Активность пероксидазы (ПО) мигрирующих ПЯЛ существенно не изменяется как в разгаре заболевания, так и в периоде реконвалесценции у детей во всех возрастных группах при наличии воспалительного процесса в верхних дыхательных путях. Местное использование Е-АКК при вирусных инфекциях у детей способствует некоторому повышению активности ПО.

Мигрирующие на слизистую оболочку ПЯЛ содержат значительное количество неферментных катионных белков (КБ) — важного антибактериального и противовирусного фактора [7]. У здоровых лиц всех возрастных групп уровень катионных белков в эмигрировавших ПЯЛ ниже, чем в аналогичных клетках крови. Так у детей первых 3 лет жизни СЦК в клетках крови составляет  $2,29 \pm 0,4$ , а в мазках-перепечатках  $1,53 \pm 0,01$ . Сопоставление этого показателя в возрастном аспекте выявило тенденцию к его снижению. Следует подчеркнуть, что динамика содержания КБ в онтогенезе соответствует динамике активности ПО. Объяснение снижения показателей активности этих бактерицидных факторов в мигрирующих ПЯЛ у детей в возрасте от 3 до 9 лет требует дополнительных исследований.

При вирусных инфекциях у детей младших возрастных групп динамика содержания КБ имеет одинаковую направленность и характеризуется снижением СЦК в разгаре заболевания и его повышением на 7—10 день исследования. У взрослых людей, при наличии острого воспалительного процесса в верхних дыхательных путях также обнаружена тенденция к снижению содержания КБ в мигрирующих ПЯЛ.

Применение в качестве противовирусного средства Е-АКК у детей больных ОРВИ с токсикозом способствовало нормализации СЦК, в то же время при отсутствии токсических синдромов это действие препаратов было не столь убедительным.

Более ценным по информативности динамики содержания этого важного бактерицидного фактора ПЯЛ оказались гистограммы распределения популяций исследуемых клеток по уровню содержания в них катионных белков. У здоровых лиц большинство эмигрировавших ПЯЛ обладают средней степенью насыщенности КБ (2, 3, 4 степени условных единиц), но в отличие от ПЯЛ в мазках крови здесь имеется большее число клеток, не содержащих катионных гранул (рис. 4). При ОРВИ характер гистограмм изменяется. Так, например, у детей младшего возраста происходит уменьшение числа клеток, не содержащих КБ (0—1 степени), и клеток с высокой степенью насыщенности КБ (4—5 степени). Поэтому гистограмма уплощается с выраженным пиком содержания клеток средней степени насыщенности КБ (2—3), особенно при тяжелом течении ОРВИ с токсическими синдромами. Это, очевидно, связано с усилением процесса миграции ПЯЛ и накоплением на поверхности «свежих» клеток, которые успевают декантироваться лишь частично. В периоде выздоровления гистограмма имеет выраженную тенденцию к нормализации. Наиболее демонстративна ее динамика на фоне лечения больных с применением Е-АКК.

Мигрирующие на слизистую ПЯЛ обладают способностью фагоцитировать бактерии. Показатели фагоцитарной активности у здоровых в старших возрастных группах значительно выше, чем у грудных детей и в первые годы жизни. Вирусная агрессия приводит к существенной активизации этой функции, особенно к 7—10 дню болезни ( $p < 0,01$ ) и у больных, леченных Е-АКК.



Таким образом, клеточные элементы, в частности, мигрирующие на слизистую оболочку дыхательных путей ПЯЛ, активно участвуют в функционировании барьера слизистой органов дыхания уже на ранних этапах онтогенеза человека. Эмигрировавшие ПЯЛ сохраняют в течение определенного времени свою фагоцитарную способность и, обладая высоким содержанием ПО и КБ — важных бактерицидных факторов, продолжают оставаться активным функционирующим элементом, действие которого направлено против попадающих на слизистую бактерий и вирусов.

Цитограмма и цитохимическая характеристика клеток мазков-репечатков со слизистых верхних дыхательных путей при наличии воспалительного очага в этой области является чувствительным тестом в оценке защитных возможностей организма в воротах инфекции.

V. P. Buyko, Yu. I. Bazhora

#### AGE PECULIARITIES OF CELLULAR FACTORS FOR PROTECTING MUCOUS MEMBRANES OF THE UPPER RESPIRATORY TRACTS IN NORM AND WITH INFECTIOUS PATHOLOGY

126 sick and 53 healthy persons are examined with the aim to investigate qualitative and quantitative indices of printing smears from the mucous membrane surface of the upper respiratory tracts in adults and children of different age in norm and with viral and bacterial pathology. It is determined that polymorphonuclear leukocytes migrating to the mucous membranes of the respiratory tracts actively participate in functioning of the mucous membrane barrier at the earliest stages of human ontogenesis. Emigrated polymorphonuclear leukocytes retain their phagocytic ability for a certain period and possessing high amount of peroxidase and cation proteins (important bactericidal factors) continue to be an active functioning element whose action is directed against bacteria and viruses, appearing on the mucous membranes. Cytochemical picture of printing smears from the mucous membranes of the upper respiratory tracts in the presence of inflammatory focus in this area is a sensitive test for estimating the level of the human organism immunity in the infection atrium.

Medical Institute, Odessa

#### Список литературы

1. Ботвиньева В. В., Михайлова З. М., Соколова Т. С. и др. Показатели местного иммунитета в секрете ротовой полости у здоровых детей и детей с заболеваниями респираторного тракта.— Педиатрия, 1980, № 1, с. 35—37.
2. 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.
3. Драгомирецкий В. Д., Бажора Ю. И., Гончар Л. Н. Эмиграция клеток на поверхность слизистой оболочки ротоглотки и их ферментативная активность после воздействия физическими факторами у больных хроническим тонзиллитом.— Журн. ушных, носовых и горловых болезней, 1984, № 3, с. 32—37.
4. Жирнов О. П., Овчаренко А. В., Букринская А. Г. и др. Противовирусное действие ингибиторов протеаз при вирусных инфекциях. Экспериментальные и клинические наблюдения.— Вопр. вирусологии, 1984, № 4, с. 491—497.
5. Злыдников Д. М., Казанцев А. П., Старшов П. Д. Терапия вирусных болезней.— Л.: Медицина, 1979.—312 с.
6. Катосова Л. К. Цитохимическая характеристика лейкоцитов крови при экспериментальном гнойно-воспалительном процессе у крольчат.— Микробиология, 1977, № 3, с. 102—107.
7. Пигаревский В. Е. Зернистые лейкоциты и их свойства.— М.: Медицина, 1978.—127 с.
8. Уланова М. А. Активность лизоцима в секретах и сыворотке крови у детей, больных несложненными и осложненными формами острых респираторных вирусных инфекций.— Педиатрия, 1983, № 2, с. 47—49.
9. Falt-Hi B. A., Ashmani S. E. A recent immunological concept of some nasal diseases.— J. Laryngol. and Otol., 1980, 94, N 3, p. 291—299.
10. Freter R. Locally produced and serum derived antibodies in local immunity.— N. Engl. J. Med., 1971, 285, p. 1375—1376.

Одес. мед. ин-т

Поступила 06.05.85