

УДК 616.24-002-074/076

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ МОРФОМЕТРИИ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

О.И. Фёдорова, И.Л. Давыдкин, А.М. Осадчук, ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»

*Фёдорова Ольга Ивановна – e-mail: olga10174@mail.ru*

С целью изучения реакции крови у лиц разного возраста и пола при пневмонии обследованы 116 больных внебольничной бактериальной пневмонией (80 мужчин и 36 женщин), которые были разделены на три возрастные группы: 18–44 лет, 45–59 и 60–74 года, контрольные группы составили 16 и 14 практически здоровых мужчин и женщин, соответственно. Всем обследованным проведена компьютерная морфометрия моноцитов периферической крови. У больных всех возрастных групп при пневмонии размеры моноцитов уменьшаются за счет ядер, что указывает на ускоренное их производство в костном мозге. Половых отличий в реакции моноцитов на воспаление легких нет. Отсутствие увеличения цитоплазмально-ядерного отношения у пожилых больных указывает на меньшую степень активации моноцитов в данной группе больных.

**Ключевые слова:** компьютерная морфометрия, моноциты, пневмония, кровь.

The aim of the research was to study blood responses to pneumonia in patients of different age and sex. The subjects of the study were 116 patients with extrahospital bacterial pneumonia (80 men and 36 women). The patients were divided into three age groups: 18 to 44 years, 45 to 59 years, and 60 to 74 years. Almost healthy 16 men and almost healthy 14 women have made the control groups. Computer morphometry of monocytes of peripheral blood was made to all patients. The sizes of monocytes in patients with pneumonia of all age groups decrease at the expense of kernels, which indicate to their accelerated manufacture in a marrow. Sexual differences in reaction of monocytes to pneumonia are not present. Absence of increase in cytoplasm to nucleus ratio index in elderly patients testifies a smaller degree of monocytes activation in this group of patients.

**Key words:** computer morphometry, monocytes, pneumonia, blood.

**Д**емографические особенности современного общества характеризуются ростом средней продолжительности жизни и увеличением группы граждан пожилого и старческого возраста в общей структуре населения, что вызывает закономерное и значительное увеличение интереса к геронтологии [1, 2]. Внебольничная пневмония – одно из самых распространенных и потенциально жизнеугрожающих инфекционно-воспалительных заболеваний во всем мире [3, 4, 5]. При этом

в старших возрастных группах частота и смертность вследствие пневмонии существенно возрастают [6].

Актуальность изучения пневмонии у людей различного возраста диктует необходимость совершенствования методов диагностики этого вида патологии. В первую очередь, это касается морфологических изменений клеток периферической крови. В частности, для объективизации морфологической диагностики предпринимаются попытки использовать

методы морфометрии, проточной и сканирующей цитометрии [7, 8]. При этом в последнее время все более очевидными становятся преимущества методов количественной цитологии: стандартный подход к исследуемому материалу, объективизация, повышение воспроизводимости получаемых результатов, автоматизация сложных процессов измерения и машинная классификация клеток, возможность широкого использования в практическом здравоохранении [9]. Стремление получить принципиально новые данные об объекте заставляет переходить от визуального наблюдения к измерению характеристик объекта по его изображению, от микроскопии к морфометрии. В то же время сведения об изменениях морфологии клеток крови у больных пневмонией различного возраста не только немногочисленны и противоречивы, но в ходе выполнения этих наблюдений не использованы многие из предложенных в последние годы новых методов исследования количественных и качественных свойств форменных элементов крови, что и явилось предметом нашего исследования.

Морфометрические исследования гемоизображений распространены в практике лабораторного анализа. Так, проведен компьютерный морфометрический анализ моноцитов крови здоровых лиц и больных при опухолевых и реактивных пролиферациях моноцитов [10]. В.М. Погорелов и Г.И. Козинец [11] выполняли «диагностическую морфометрию» бластных клеток костного мозга больных острым миелоидным лейкозом. Р.Н. Шишина и соавт. [12] проводили компьютерную морфометрию лимфоцитов периферической крови при апластической анемии.

Моноциты и тканевые макрофаги обеспечивают первую линию противомикробной защиты, участвуют в реакциях врожденного и приобретенного специфического иммунитета. Кроме того, известен факт снижения функциональной активности макрофагов при старении [13]. Компьютерная морфометрия клеток крови не только позволяет получить математические характеристики клеточной популяции, но и дает возможность судить об активности внутриклеточных процессов в зависимости от тяжести клинических проявлений заболевания. Очевидно, что при активации процессов метаболизма в клетке увеличивается ее площадь, ядро становится более рыхлым и увеличивается в размере [14]. Особенности морфометрических показателей моноцитов могут указывать на интенсивность реакций моноцитарного звена иммунной резистентности организма у больных пневмонией разного возраста и объяснять выраженность клинических и лабораторных проявлений пневмонии, что можно учитывать как в диагностике, так и лечении больных с данной патологией.

**Целью настоящего исследования** явилась оценка морфологических особенностей моноцитов периферической крови у больных пневмонией различного возраста и пола.

#### Материалы и методы

Обследованы 116 больных внебольничной бактериальной пневмонией разного возраста (деление на возрастные группы произведено согласно рекомендациям семинара геронтологов и ВОЗ (Киев, 1963): 1-я группа — больные молодого возраста (18–44 года), 2-я — больные среднего возраста (45–59 лет) и 3-я — больные пожилого возраста (60–74 года). Все больные не имели сопутствующих аутоиммунных заболеваний и были разделены на группы по полу и возра-

сту. Больных пневмонией 1-й возрастной группы было 49 (34 мужчины и 15 женщин), 2-й группы — 32 (22 мужчины и 10 женщин), 3-й группы — 35 (24 мужчины и 11 женщин). Контрольную группу составили 30 практически здоровых человека (16 мужчин и 14 женщин) 18–44 лет, то есть люди молодого возраста. Мы согласны с мнением В.М. Дильмана [15], который, рассматривая одну из моделей развития болезней — онтогенетическую, — предлагает отказаться от критерия «возрастной нормы». Он считает, что норма едина, поэтому необходимо основываться на критериях «идеальной нормы» (то есть соотношения возрастных сдвигов для каждого индивидуума к его показателям в возрасте 20–25 лет) или «оптимальной нормы», при которой минимальна частота главных неинфекционных болезней и, соответственно, минимальны нарушения, формирующие эти болезни.

Всем обследованным при поступлении в стационар проведены общий анализ крови и компьютерная морфометрия моноцитов периферической крови в стандартно приготовленных мазках периферической крови, окрашенных по Паппенгейму. Анализ показателей морфометрии моноцитов периферической крови у мужчин и женщин проведен раздельно. С помощью системы анализа изображения, состоящей из микроскопа проходящего света «AxioStar+» фирмы «Carl Zeiss» (объектив 100xМИ), видеокамеры «JVC 1/2», персонального компьютера и программы анализа изображений «Image Tool», была проведена морфометрия моноцитов крови. Проводили выделение границ клеток, их ядер и измерение диаметров клеток. В каждом наблюдении определяли площадь клеток и ядер 25 моноцитов. Всего измерено 3553 моноцита (349 и 395 в контрольных группах женщин и мужчин, и по 374 и 799, 249 и 541, 272 и 574 в группах больных пневмонией женщин и мужчин молодого, среднего и пожилого возраста соответственно) (таблицы 1 и 2). С помощью объект-микрометра была проведена калибровка системы анализа изображения, при которой было найдено соответствие микрометров к пикселям на экране монитора.

Первичные морфометрические показатели — площадь клетки ( $S_k$ ) и площадь ядра ( $S_a$ ) — в дальнейшем применяли в расчетах цитоплазмально-ядерного отношения (ЦЯО). Его определяли по формуле:  $ЦЯО = \frac{S_k - S_a}{S_a}$ . Полученные результаты обрабатывали после проверки нормальности распределения методом вариационной статистики с применением  $t$ -критерия Стьюдента, статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

Анализ полученных результатов показал, что уровень лейкоцитов периферической крови у больных пневмонией трех групп ( $7,2 \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $8,2 \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $6,8 \cdot 10^9/\text{л}$ , соответственно), значимо выше, чем у здоровых ( $5,8 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Относительное и абсолютное число моноцитов крови увеличено относительно контрольной группы (5,8% и  $0,335 \cdot 10^9/\text{л}$ ) у больных пневмонией молодого, среднего и пожилого возраста (9,3; 8,6; 7,7% и  $0,655 \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $0,719 \cdot 10^9/\text{л}$ ,  $0,515 \cdot 10^9/\text{л}$ , соответственно).

Таким образом, у наблюдаемых нами больных число моноцитов как относительное, так и абсолютное было увеличено, что объясняется увеличением продукции моноцитов для обеспечения возросших потребностей организма в фагоцитирующих клетках.

У больных пневмонией всех трех возрастных групп площадь моноцитов ( $211,5 \text{ мкм}^2$ ,  $211,3 \text{ мкм}^2$ ,  $212,6 \text{ мкм}^2$  — у женщин;

**ТАБЛИЦА 1.**  
**Морфометрические показатели моноцитов крови женщин, больных пневмонией**

Морфометрические показатели	Здоровые			1-я группа (от 18 до 44 лет)			2-я группа (от 45 до 59 лет)			3-я группа (от 60 до 74 лет)		
	М	s	n	М	s	n	М	s	n	М	s	n
Площадь моноцитов, мкм <sup>2</sup>	221,6	1,72	349	211,5*	2,17	374	211,3*	2,95	249	212,6*	2,72	272
Площадь ядра моноцитов, мкм <sup>2</sup>	117,4	0,74	349	107,1*	0,8	374	106,6*	0,88	249	110,6*	0,85	272
Площадь цитоплазмы моноцитов, мкм <sup>2</sup>	104,2	1,48	349	104,3	1,76	374	104,7	2,52	249	101,9	2,29	272
ЦЯО моноцитов	0,9	0,013	349	0,98*	0,016	374	0,98*	0,022	249	0,92	0,018	272

**Примечание:** \* – достоверность различий между показателями у здоровых и больных –  $p < 0,05$ , # – достоверность различий между показателями у больных 1-й и 3-й групп –  $p < 0,05$ , (+) – достоверность различий между показателями у больных 2-й и 3-й групп –  $p < 0,05$ , n – число измеренных клеток в наблюдаемых группах.

**ТАБЛИЦА 2.**  
**Морфометрические показатели моноцитов крови мужчин, больных пневмонией**

Морфометрические показатели	Здоровые			1-я группа (от 18 до 44 лет)			2-я группа (от 45 до 59 лет)			3-я группа (от 60 до 74 лет)		
	М	s	n	М	s	n	М	s	n	М	s	n
Площадь моноцитов, мкм <sup>2</sup>	222,0	1,71	395	213,8*	1,48	799	212,6*	2,09	541	211,5*	1,74	574
Площадь ядра моноцитов, мкм <sup>2</sup>	116,2	0,67	395	108,6*	0,54	799	107,7*	0,76	541	108,4*	0,61	574
Площадь цитоплазмы моноцитов, мкм <sup>2</sup>	105,8	1,52	395	105,2	1,29	799	104,9	1,74	541	103,0	1,48	574
ЦЯО моноцитов	0,92	0,014	395	0,99*	0,024	799	0,98*	0,016	541	0,95	0,014	574

**Примечание:** \* – достоверность различий между показателями у здоровых и больных –  $p < 0,05$ , # – достоверность различий между показателями у больных 1-й и 3-й групп –  $p < 0,05$ , (+) – достоверность различий между показателями у больных 2-й и 3-й групп –  $p < 0,05$ , n – число измеренных клеток в наблюдаемых группах.

213,8 мкм<sup>2</sup>, 212,6 мкм<sup>2</sup>, 211,5 мкм<sup>2</sup> – у мужчин) уменьшена за счет уменьшения площади ядра (107,1 мкм<sup>2</sup>, 106,6 мкм<sup>2</sup>, 110,6 мкм<sup>2</sup> – у женщин, 108,6 мкм<sup>2</sup>, 107,7 мкм<sup>2</sup>, 108,4 мкм<sup>2</sup> – у мужчин). ЦЯО увеличивается у больных молодого (0,98 у женщин и 0,99 у мужчин) и среднего возраста (0,98 у женщин и мужчин). Половых отличий в реакции моноцитов на воспаление легких не выявлено, лишь площадь ядра моноцитов и ЦЯО у пожилых женщин, больных пневмонией, имеет значимое различие с этими показателями женщин, больных пневмонией, 1-й и 2-й возрастных групп (таблица 1 и 2).

Учитывая известный факт, что при созревании клетки от монобласта до макрофага она претерпевает ряд как функциональных, так и морфологических изменений, в том числе и размеров клеток [10], можно предположить, что по мере увеличения возраста моноцита, циркулирующего в крови, он увеличивается в размерах [16]. При анализе морфометрических показателей обращает на себя внимание, что размеры моноцитов и их ядер уменьшаются. Это можно объяснить тем, что при воспалении в крови появляются более молодые моноциты, которые имеют меньшие размеры. Отсутствие увеличения ЦЯО у пожилых больных может быть обусловлено меньшей реактивностью моноцитарного звена иммунной резистентности организма и указывает на снижение интенсивности иммунных реакций в данной группе больных. Возможно, этим объясняется известный факт более тяжелого течения пневмонии у пожилых больных.

#### Выводы

У больных всех возрастных групп при пневмонии размеры моноцитов уменьшаются за счет ядер, что указывает на ускоренное их производство в костном мозге. Половых отличий в реакции моноцитов на воспаление легких нет. Отсутствие увеличения цитоплазменно-ядерного отношения у пожилых больных пневмонией указывает на меньшую степень активации моноцитов в данной группе больных, что связано с более тяжелым течением пневмонии у пожилых больных и что следует учитывать в качестве критерия течения воспалительного процесса при лечении больных с данной патологией.



#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kinsella K., Velkoff V. Aging populations signal a demographic sea change. *Common Hlth.* Spring. 1998. Vol. 6 (Issue 2). P. 211-218.
2. Бойко Ю.П., Сурков С.А., Лукашев А.М., Добридень О.В. Проблемы пожилых людей с позиций их социального статуса. *Клиническая геронтология.* 2007. Т. 13. № 3. С. 45-49.
3. Синопальников А.И. Бактериальная пневмония. Пульмонология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. С. 218-255.
4. National Center for Health Statistics. *Health, United States, 2006*, with chartbook on trends in the health of Americans. Available from: [www.cdc.gov/nchs/data/hus/06/pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/hus/06/pdf).
5. Mandell L.A., Wunderink R. G., Anzueto A. et al. Infectious Diseases Society of America. American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 2007. № 44. P. 27-72.
6. Дворецкий Л.И., Яковлев С.В. Пожилой больной и инфекция. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 368 с.
7. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина, 2002. 240 с.
8. Davey D.D., McGoogan E., Somrak T. M. et al. Competency assessment and proficiency testing. *Acta cytol.* 2000. Vol. 44. P. 939-943.
9. Козинец Г.И., Сарычева Т.Г., Луговская С.А. и др. Гематологический атлас: настоящее руководство врача-лаборанта. М.: Практич. мед., 2008. 187 с.
10. Исследование системы крови в клинической практике. / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. С. 133-203.
11. Погорелов В.М., Козинец Г.И. Ключи к диагностике острых лейкозов (по следам утренних конференций Института гематологии и интенсивной терапии гематологического научного центра РАМН). *Гематол. и трансфузиол.* 2008. Т. 53. № 5. С. 27-31.
12. Шишина Р.Н., Рахманова Д.Ф., Потапова С.Г. и др. Морфометрическая характеристика лимфоцитов при апластической анемии. *Гематол. и трансфузиол.* 2009. Т. 54. № 2. С. 19-22.
13. Семенов В.Ф., Мирошниченко И.В., Столпникова В.Н., Левашова Т.В. Возрастной иммунодефицит и его коррекция. Руководство по геронтологии. Под ред. В.Н. Шабалина. М.: Цитадель-трейд, 2005. С. 187-204.
14. Новодержкина Ю.К., Караштин В.В., Морук Б.В. и др. Морфометрические показатели лимфоцитов периферической крови в условиях 120-суточной антиортостатической гипокинезии. *Клин. лаб. диагностика.* 1996. № 1. С. 40-41.
15. Дильман В.М. Хронобиологические аспекты геронтологии и гериатрии. Хронобиология и хрономедицина. Под ред. Ф.И. Комарова. М.: Медицина, 1989. С. 323-335.
16. Карр Я. Макрофаги. /пер. с англ. М.: Медицина, 1978. 188 с.