

6. Петленко В.П. Философские вопросы теории патологии. Л.: Медицина, Ленингр. отд. 1968. 286 с.
7. Поппер К. Логика и рост научного знания: Пер. с англ. М.: Прогресс, 1983. 605 с.
8. Сачков Ю.В. Эволюция учения о причинности // Вопр. философии. 2003. №4. С. 101–118.
9. Степин В.С. Теоретическое знание: Структура, историческая эволюция. М.: Прогресс-Традиция, 2000. 744 с.
10. Степин В.С. Саморазвивающиеся системы и постклассическая рациональность // Вопр. философии. 2003. №8. С. 5–17.

AN INTRODUCTION IN PHILOSOPHY OF BIOLOGY AND MEDICINE

V.A.KARPIN

Surgut State University

It is offered to put in a basis of the modern general theory of pathology the following three philosophical principles, which can act in a role of the philosophical bases of the theory and from which all can be consistently deduced its substantive provisions: a principle of determination – a principle of causality – aetiology; a principle of self-organizing – a principle systemable – pathogenesis; a principle of unity of the nature – a principle of similarity – essence of illness.

Key words: philosophy, biology, medicine

УДК 611.018.53

ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫЕ ЛЕЙКОЦИТЫ КАК СИСТЕМА
АНТИЭНДОТОКСИНОВОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА

С.Г. НЕХАЕВ*, Ю.И. ГРИГОРЬЕВ

Элиминируя липополисахариды (ЛПС) из системного кровотока, лейкоциты препятствуют реализации прямых токсических эффектов ЛПС, выполняя таким образом роль антиэндотоксिनного барьера с одной стороны, а с другой – являются исключительно важным звеном на пути реализации системной фазы синдрома интоксикации. В то же время снижение способности нейтрофилов сорбировать на своей поверхности дополнительное количество ЛПС, снижает эффективность антиэндотоксिनного барьера в условиях системной эндотоксинемии.

Ключевые слова: липополисахариды, лейкоциты, синдром интоксикации

Интегральным отражением нарушенного функционального равновесия большинства органов и систем организма у больных острыми инфекционными заболеваниями является синдром интоксикации (СИ), морфо-функциональным индуктором развития которого выступают эндотоксины (ЭТ), по химической структуре являющиеся липополисахаридами (ЛПС).

Однако, проникнув в организм ЭТ на пути реализации своих патофизиологических эффектов встречает ряд естественных защитных систем, среди которых видное место отводится глубоководной антиэндотоксिनной системе. Антиэндотоксिनные системы являются одним из самых эффективных барьеров на пути развития системной эндотоксинемии. К числу таких систем можно отнести – систему полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ). ПМЯЛ являются основной эндотоксинсвязывающей системой крови, которая практически постоянно поддерживается в состоянии определенного физиологического тонуса поступающими из кишечника в небольших количествах эндотоксинами. При этом ЛПС лишается возможности реализовать свои эффекты непосредственно, проникая в свободном виде в органы и ткани организма [1,2]. Однако при этом и сами ЛПС не остаются пассивными участниками этого процесса, а выступают в качестве биологического посредника в реализации многих патофизиологических эффектов эндотоксинов, в том числе и в реализации системной фазы интоксикационного синдрома.

При взаимодействии ЛПС с ПМЯЛ изменяются многие метаболические характеристики последних. В качестве биологических посредников этого процесса наиболее активно проявляют себя медиаторы нейтрофилов, которые либо непосредственно регулируют функциональное состояние органов и систем, либо стимулируют образование вторичных медиаторов моноцитарно-макрофагальными клетками [3].

Помимо прямого взаимодействия ЛПС с лейкоцитами возможны и косвенные пути его влияния на нейтрофилы. К числу таких основных путей относятся:

- изменение функционального состояния других компонентов крови, в частности через систему комплемента и тромбоциты;
- премирующий эффект ЛПС на гранулоциты, который опосредуется фактором, образующимся в тромбоцитах. Меха-

низм данного феномена сводится к «подготовке» нейтрофилов к ускоренной выработке активных форм кислорода в ответ на воздействие различных стимулов. На следующем этапе активные формы кислорода вмешиваются в метаболические процессы в органах и тканях. Как итог развития комплекса метаболических нарушений в ПМЯЛ развивается так называемый «респираторный взрыв», характеризующийся выработкой значительных количеств биологически активных веществ, обладающих киллерной активностью в отношении широкого круга бактерий, грибов, вирусов, простейших. Однако у гиперактивированных форм ПМЯЛ снижается фагоцитарная активность, что уменьшает эффективность антиэндотоксिनных барьеров организма;

- индукция проадгезивных и проагрегационных свойств через хемотаксический фактор C5a. В этом процессе возможно и посредничество комплемента. При этом ЛПС может вести к ускорению синтеза фактора C5a и как следствие к увеличению адгезии лейкоцитов;

- уменьшение эндотоксином поверхностного отрицательного заряда мембран ПМЯЛ.

Повышение адгезивных и агрегационных свойств нейтрофилов приводит к секвестрации лейкоцитов за счет перераспределения их из циркуляторного пула в маргинальный. Такие мигрировавшие в органы и ткани лейкоциты образуют свободные радикалы кислорода, лизосомальные ферменты, протеиназы, лейкотриены, что может привести к серьезным негативным последствиям. Таким образом, способность нейтрофилов к связыванию ЛПС может существенно влиять на развитие интоксикационного синдрома. В связи с этим, представляется необходимым изучить характер изменений липополисахаридсвязывающей активности нейтрофилов, а также их способности к дополнительной сорбции ЛПС в условиях системной эндотоксинемии в динамике заболевания. С этой целью, определялись показатели тестов – липополисахарид-позитивные нейтрофилы (ЛПС-ПН) в начальном периоде, периоде разгара болезни, а также в период реконвалесценции. Исследования проводились у больных с пищевыми токсикоинфекциями.

Материал и метод. Для характеристики эндотоксинсвязывающей функции ПМЯЛ нами был использован тест ЛПС-ПН, разработанный М.Ю. Яковлевым с соавт. [4] в спонтанном и нагрузочном вариантах. С целью определения количества лейкоцитов, связавших эндотоксин, был использован спонтанный вариант ЛПС – теста, а для выявления потенциальной способности ПМЯЛ связывать дополнительное количество ЛПС в нагрузочном тесте был использован гликолипид хемотипа Re, производственного центра «Микрокос». При приготовлении мазков крови для постановки тестов ЛПС-ПН были использованы стандартные предметные стекла. До начала приготовления мазков все стекла были подвергнуты тщательной обработке с целью их обезжиривания.

Методика выполнения теста ЛПС-ПН в спонтанном и нагрузочном вариантах следующая:

- все мазки перед началом исследования разделялись на 2 равные половины, на одной из которых выполнялся спонтанный тест, а на другой – нагрузочный.

- с целью инактивации эндогенной пероксидазы лейкоцитов на мазки наносилась смесь, состоящая из 96°C этилового спирта и 33% перекиси водорода (1 мл этилового спирта и 0,25 мл перекиси водорода на каждый мазок).

- через 20 мин мазки промывали в физиологическом растворе в течение 5 мин.

- для выполнения нагрузочного теста на одну половину мазков наносили 1 мл гликолипида хемотипа Re, в концентрации 49 мг/л. Использованный гликолипид был получен из клеток *Salmonella Minnesota R595*.

- после 3-минутной выдержки мазки вновь в течение 5 мин промывали физиологическим раствором.

- затем обе половины мазков в течение 30 мин подвергали воздействию конъюгата антител к Re-гликолипиду с пероксидазой (1 мл конъюгата на каждый мазок).

- после этого мазки вновь в течение 5 мин промывали в физиологическом растворе.

- на обе половины мазков наносили по 1 мл смеси 33% перекиси водорода с ортофенилендиамином (индикаторный краситель) и этанолом.

- через 30 мин мазки промывали водой и окрашивали толудиновым синим.

* 300126, г.Тула, ул.Болдина, 128, кафедра пропедевтики внутренних болезней ТулГУ

– через 10 мин излишки красителя смывали водой, мазки высушивали и микроскопировали под световым микроскопом.

Определение количества ПМЯЛ, связавших эндотоксин в спонтанном и гликолипид в нагрузочном вариантах ЛПС-ПН теста осуществлялось путем подсчета нейтрофилов, окрашенных в желтый цвет в % на 100 клеток всех нейтрофилов.

Контрольный ЛПС-тест в спонтанном и нагрузочном вариантах выполнен у 35 доноров.

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований показателей тестов ЛПС-ПН в различные периоды заболевания представлены в табл. 1-3.

Таблица 1

Показатели спонтанного и нагрузочного тестов ЛПС-ПН у больных легким течением заболевания ПТИ

Исследуемые показатели	Контроль n=35	Сроки обследования больных n=11		
		При поступлении	Через 1 сутки от начала лечения	На 4-5 сутки лечения
Спонтанный тест, %	3,50±0,40	1,41±0,89	1,92±0,94	4,01±0,60
Нагрузочный тест, %	8,40±0,60	5,31±0,98	6,02±1,12	8,97±1,41

Таблица 2

Показатели спонтанного и нагрузочного тестов ЛПС-ПН у больных со среднетяжелым течением ПТИ

Исследуемые показатели	Контроль n=35	Сроки обследования больных n=25		
		При поступлении	Через 1 сутки лечения	На 4-5 сутки лечения
Спонтанный тест, %	3,50±0,40	0,10±0,07	0,38±0,15	1,50±0,19
Нагрузочный тест, %	8,40±0,60	0,18±0,10	0,25±0,11	1,78±0,38

Таблица 3

Показатели спонтанного и нагрузочного тестов ЛПС-ПН у больных с тяжелым течением ПТИ

Исследуемые показатели	Контроль n=35	Сроки обследования больных n=11		
		При поступлении	Через 1 сутки от начала лечения	На 4-5 сутки лечения
Спонтанный тест, %	3,50±0,40	0,15±0,10	0,10±0,10	1,00±0,38
Нагрузочный тест, %	8,40±0,60	0,31±0,17	0,45±0,25	1,89±0,45

Как показали проведенные нами исследования, даже у больных с легким течением болезни при поступлении в стационар в периферической крови было достоверно значимо снижено содержание ЛПС-ПН, а также падал сорбционный потенциал нейтрофилов. Практически на одном уровне показатели как спонтанного, так и нагрузочного тестов сохранялись и через 1 сутки после начала лечения. К 4-5 суткам показатели обоих тестов восстанавливались до границ контрольных значений.

У больных средней степени тяжести была зарегистрирована аналогичная по направленности динамика показателей обоих тестов ЛПС-ПН, но с некоторыми количественными отличиями. При поступлении в стационар и через 1 сутки от начала лечения у этих больных в периферической крови было резко снижено число нейтрофилов, связавших ЛПС до 0,2±0,05 и 0,27±0,08 соответственно. Постановка нагрузочного теста в эти же периоды заболевания показала, что одновременно со снижением уровня ЛПС – положительных нейтрофилов, снижается и способность полиморфно-ядерных лейкоцитов сорбировать на своей мембране дополнительное количество ЛПС. Результаты обоих тестов в период клинического улучшения имели лишь тенденцию к восстановлению, но так и не достигали контрольных значений.

Несмотря на более низкие значения показателей спонтанного и нагрузочного тестов ЛПС-ПН, все они не имели существенных отличий от соответствующих показателей, полученных у больных со среднетяжелым течением заболевания. Снижение в периферической крови уровня ЛПС-ПН обусловлено в первую очередь их миграцией и накоплением в различных органах и тканях [5,6]. Этим способом осуществляется элиминация биологически актив-

ных форм ЛПС из системного кровотока, что снижает прямые повреждающие эффекты ЛПС на структуры организма. Однако, мигрировавшие в органы и ткани гранулоциты оказывают на них вторичный повреждающий эффект за счет выделения пула лизосомальных ферментов и медиаторов. Следует также отметить, что свое влияние активированные ЛПС нейтрофилы оказывают и на купферовские клетки печени, через посредничество которых осуществляется регуляция белковосинтетической функции печени. Помимо этого, увеличение адгезивных и агрегационных свойств нейтрофилов по данным М.Е. Wilson [7] может вести к их секвестрации из центрального пула в маргинальный, что снижает их концентрацию в кровотоке и может способствовать миграции этих лейкоцитов в органы и ткани, тем самым, усиливая их органо-патологические эффекты.

Выявленное снижение сорбционной способности полиморфно-ядерных лейкоцитов может быть объяснено несколькими причинами. Во-первых, в остром периоде заболевания наблюдается выброс из костного мозга незрелых форм нейтрофилов, активность которых, включая и рецепторный аппарат, существенно ниже зрелых форм. Второй причиной может быть недостаточное количество антител к гликолипиду ЛПС, поскольку на ранних этапах взаимодействие ЛПС с нейтрофилами осуществляется посредством Fc-рецепторов и армируется Re-антителами. Так, в последнее время появились исследования [5], в которых было показано, что снижение титров Re-антител в сыворотке крови больных коррелирует со степенью тяжести болезни. Как показано в экспериментальных исследованиях [8], депрессия антителообразования связана с угнетением липидным компонентом молекулы ЛПС β-клеточной пролиферации. Свой вклад в спад сорбционной способности нейтрофилов может вносить и малое число Fc-рецепторов на внешней мембране лейкоцитов.

Выводы. На высоте клинических проявлений интоксикации в периферической крови снижалось количество ЛПС-положительных полиморфно-ядерных лейкоцитов; В тесте *in vitro* в условиях выраженной интоксикации выявлено снижение способности нейтрофилов периферической крови к дополнительной сорбции ЛПС; полиморфно-ядерные лейкоциты периферической крови играют весьма существенную роль в развитии инфекционного процесса у больных ПТИ.

Литература

1. Пермяков Н.К., Яковлев М.Ю., Галанкин В.Н. Эндотоксин и система полиморфно-ядерных лейкоцитов // Арх. патологии. 1989. Т. 51. Вып. 5. С. 3–11.
2. Эндотоксинсвязывающие системы крови / А.В. Апполонин, Ю.Яковлев, А.А.Рудик, В.Г.Лиходед // Жур. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1990. №11. С. 100–106.
3. Proctor R.A. Effect of endotoxins on neutrophils // Handbook of Endotoxin: Cellular Biology of Endotoxin / Ed. Berry L.J. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., 1985. Vol.3. P. 244–259.
4. Диагностическая информативность иммунологической идентификации эндотоксин-положительных гранулоцитов в клинике и эксперименте / М.Ю. Яковлев, А.Н. Крутик, Е.В. Бондаренко и др. // Акт. Вопр. Теоретич. и практич. иммунологии. Механизмы противoinфекционного иммунитета. М.: Медицина, 1987. С. 127–128.
5. Малов В.А. Клинико-патогенетическое значение интоксикации у больных острыми инфекционными кишечными заболеваниями. Дис... д-ра мед. наук. М., 1992. 305 с.
6. Состояние некоторых гуморальных антиэндотоксиновых систем у больных острыми кишечными инфекциями / В.А. Малов, А.В. Апполонин, Ч. Карпыев и др. // Тер. архив. 1993. №11. С.7–12.
7. Wilson M.E. Effects of bacterial endotoxins on neutrophil function // Rev. Infect. Dis. 1985. V.7. №3. P.404–448.
8. Durum S.K., Schmidt J.A., Oppenheim J.J. Interleukin 1: An immunological perspective // Ann. Rev. Immu. 1985. V ol.3. P. 263–287.

THE POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES AS A SYSTEM OF ANTI-ENDOTOXIC DEFENCE OF ORGANISM

S.G. NEKHAEV, YU.I. GRIGORIEV

300126, Tula, Boldin's Street, 128, Chair of Propedeutics of Internal Medicine of TulGU

Eliminating lipopolysaccharides (LPC) from a system blood-current, leukocytes interfere with realization of direct toxic effects of LPC, carrying out thus a role of an antiendotoxin barrier and being extremely important link for realization of a system phase of an intoxication syndrome of an. At the same time decrease in ability of neutrophils to sorb additional quantity of LPC, at there surface reduces efficiency of antiendotoxin barrier under conditions of system endotoxemia.

Key words: lipopolysaccharide, leukocytes, an intoxication syndrome