

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СИСТЕМ В
ЦИТОПЛАЗМЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ
ЛЕЙКОЦИТОВ: КОМПЬЮТЕРНЫЙ
АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОГО ИЗОБРАЖЕНИЯ**

Славинский А.А.

*Кубанский медицинский университет
Краснодар, Россия*

Функционально-метаболическая активность нейтрофильных лейкоцитов определяет эффективность их участия в противоинфекционной защите. Для подавления микроорганизмов нейтрофилы используют внутриклеточные антибактериальные системы (Kobayashi T. et al., 1998; Vollebregt M. et al., 1998). Применение электронной микроскопии в сочетании с иммуноцитохимией и субклеточным фракционированием позволило установить, что основные компоненты антибактериальных систем входят в состав цитоплазматических гранул нейтрофилов. При световой микроскопии очевидно диффузно-гранулярное распределение ряда веществ в нейтрофилах, однако значение диффузной интергранулярной области цитоплазмы ранее не рассматривалось.

Объект исследования – кровь 182 здоровых и 292 больных людей (ожоговая травма – 76 человек, гнойный перитонит – 86 человек, эмпиема плевры – 63 человека, инфаркт миокарда – 67 человек). Определяли уровень активации и функционального резерва нейтрофилов, проводили тестирование фагоцитарной функции, определяли активность миелопероксидазы, нафтол-AS-D-хлорацетат эстеразы, щелочной фосфатазы, НАДФН-оксидазы и содержания катионных белков. Проведен компьютерный анализ изображения нейтрофильных лейкоцитов (54600 клеток здоровых людей, 73000 клеток больных). Для обработки и компьютерного анализа изображения клеток использовали цветную телевизионную систему "MagiScor", изготовленную в НИИ Телевидения (Санкт-Петербург) с прикладными программами "Magisoft" (НИИ ТВ) и "Видеотест-морфо" (Иста-Видеотест).

Цитохимические маркеры антибактериальных систем (миелопероксидаза, нафтол-AS-D-хлорацетат эстераза, катионные белки, щелочная фосфатаза, НАДФН-оксидаза) при световой микроскопии обнаруживают диффузно-гранулярное распределение, то есть, располагаются не только в зернистости, но и в интергранулярной цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов. С помощью компьютерного преобразования изображения клеток нам удалось выделить в нейтрофилах область диффузно-гранулярной локализации (ДГ-зону) цветного продукта цитохимических реакций и сегментировать её, разделив на гранулы вещества и зону его диффузного распределения (Д-зону). Для выявления количественных параметров распределения маркеров антибактериаль-

ных систем в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов проведен компьютерный анализ клеточного изображения.

Гранулы вещества и Д-зона совпадают по измеренному среднему цвету, что указывает на идентичность продукта цитохимической реакции, различаясь насыщенностью цвета и оптической плотностью. У одних и тех же людей в разных клетках Д-зона варьирует по величине; встречаются нейтрофилы, содержащие только гранулы красителя. Статистически выявлена высокая зависимость площади Д-зоны от количества гранул (коэффициент корреляции у здоровых людей в среднем $0,83 \pm 2$). Изменение количества гранул в нейтрофилах больных сопровождается адекватным изменением площади Д-зоны. Представленные факты свидетельствуют о том, что диффузная локализация компонентов гранул в интергранулярной цитоплазме закономерна и не является артефактом цитохимических реакций.

В крови больных изменению функционального статуса нейтрофильных лейкоцитов сопутствуют структурно-цитохимические сдвиги в их цитоплазме. Увеличение количества циркулирующих активированных нейтрофилов у больных гнойным перитонитом и эмпиемой плевры, а также в первые дни после ожоговой травмы сопровождается снижением количества гранул миелопероксидазы и нафтол-AS-D-хлорацетат эстеразы при одновременном уменьшении зоны их диффузной локализации. Это может быть следствием дегрануляции азурофильной зернистости нейтрофилов, которая происходит в кровотоке до выхода нейтрофилов в очаг воспаления, приводит к потере антибактериальных компонентов гранул и является причиной угнетения способности клеток осуществлять киллинг фагоцитированных бактерий. При остром инфаркте миокарда установлено значительное уменьшение количества гранул протеолитического фермента нафтол-AS-D-хлорацетат эстеразы и соответствующее сокращение зоны её диффузной локализации.

Присутствие миелопероксидазы и нафтол-AS-D-хлорацетат эстеразы в азурофильных гранулах нейтрофилов известно и не вызывает сомнений (Arnljots K. et al., 1998). Выявляемые при световой микроскопии гранулы этих ферментов в своей основе, по-видимому, имеют электронно-микроскопические азурофильные гранулы нейтрофилов, что подтверждается их сходством по форме и размерам (Pamley R.T. 1997).

Неферментные катионные белки содержатся как в азурофильной зернистости – преимущественно дефензины (Arnljots K. et al., 1998), так и в специфической – главным образом лактоферрин и кателицидин hCAP-18, обладающий антибактериальным действием и способностью связывать эндотоксины (Sorensen O. et al., 1997; Frohm N.M. et al., 1999).

Щелочная фосфатаза, по современным представлениям – маркер мембран секреторных пузырьков (Vortegaard N. et al., 1994; Kobayashi T. et al., 1998). В нестимулированных нейтрофилах, согласно данным электронной микроскопии и субклеточного фракционирования, эта разновидность гранул содержит латентный пул щелочной фосфатазы и рассредоточена по всей цитоплазме. Можно полагать, что выявляемые при световой микроскопии гранулы щелочной фосфатазы представляют собой наложения красителя на более или менее крупные скопления и конгломераты секреторных пузырьков.

Восстановление нитросинего тетразолия с образованием формазана обусловлено НАДФН-оксидазной системой нейтрофилов. В покоящихся нейтрофилах НАДФН-оксидазный комплекс связан с мембранами специфических гранул, а после стимуляции выявляется также и в плазматической мембране клеток (Vaissiere C. et al., 1999). Можно предположить, что в основе выявляемых при световой микроскопии гранул формазана лежат скопления специфических гранул. Весьма существенное в нейтрофилах больных возрастание числа гранул формазана, их размеров и показателя конгломерации может быть связано с увеличенным количеством специфических гра-

нул и их агрегацией при слиянии с плазматической мембраной.

Таким образом, в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов наряду с гранулами существует зона диффузной интергранулярной локализации цитохимических маркеров антибактериальных систем, величина которой имеет прямую зависимость от количества гранул и обусловлена функционально-метаболической активностью клеток. Можно полагать, что причиной интергранулярной (диффузной) локализации компонентов антибактериальных систем является секреторная активность цитоплазматических гранул нейтрофилов.

Особенности гранулярного и диффузного распределения цитохимических маркеров антибактериальных систем в процессе активации нейтрофилов могут быть установлены уже на уровне световой микроскопии с применением компьютерного анализа клеточного изображения. Полученные данные формируют новую систему тестирования функционального потенциала нейтрофилов и прогнозирования течения патологических процессов на основе установленных морфоцитохимических критериев перехода популяции нейтрофилов в новое качественное состояние при активации.

Психологические науки

ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ФИЗИЧЕСКОЙ И ПСИХИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Дронова С.Е., Уразаева Ф.Х., Федорова Е.А.,
Уразаев Д.К.

*Медицинское отделение ОК «Дагомыс»
Сочи, Россия*

Известно, что различные формы физической и психической зависимости человека: наркотика, алкоголь, курение, компьютерные игры и т.п. существенным образом меняют личность больного, влияя на социальные отношения, разрушая их. Современные исследования подтверждают, что определенным состояниям сознания соответствуют определенные картины ритмов мозга, а навязывание внешних ритмов является мощным средством воздействия на биоэлектрическую активность мозга [1, 2, 4]. На основе этой закономерности в психолого-педагогической экспериментальной лаборатории Стерлитамакской государственной педагогической академии был предложен новый способ восстановления, ритмической активности мозга, заключающийся в усилении нормальной мозговой активности, свойственной конкретному человеку (патент № 2306852).

Предлагаемая методика направлена на приведение мозговой активности к нормальному типу (бодрость, расслабленность и спокойствие),

что значительно ускоряет период реабилитации больных. Этот способ реабилитации эмоционально-аффективных нарушений человека с применением звуковых ритмов реализуется путем подбора частот, которые соответствуют собственным индивидуальным частотным характеристикам мозга и типологии негативных изменений функционального состояния человека.

Исследована результативность применения данного способа в качестве дополнения к комплексу психотерапевтических мероприятий, проводимых с лицами, перенесших сильную психическую травму [3]. Данный способ реабилитации не имеет противопоказаний для использования его совместно с другими способами реабилитации (суггестивное воздействие, электростимуляция головного мозга и др.).

Испытание проводилось с 47 пациентами, подросткового и юношеского возраста от 15 до 22 лет. До и после процедур оценивались психологические и психофизиологические показатели испытуемых по различным методикам: тревожность по тестам Спилбергера-Ханина и Тэйлора; субъективные оценки самочувствия, активность, настроение по тесту САН; психофизиологическое состояние с помощью корректурной пробы с кольцами Ландольта и электроэнцефалографического исследования (ЭЭГ).

Исследования показали, что предлагаемая методика эффективна для снижения депрессивных состояний, тревожности, компьютерной и