

# ТУБЕРКУЛЁЗ И БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ



***IX СЪЕЗД  
ФТИЗИАТРОВ РОССИИ***

**1-3 июня 2011 г.**

**5**

**2011**

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ЛЕГОЧНОГО СУРФАКТАНТА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МАКРОФАГОВ *IN VITRO*

ЛЕПЕХА Л. Н.<sup>1</sup>, ЕРОХИНА М. В.<sup>1,2</sup>, АЛЕКСАНДРОВА Е. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный НИИ туберкулеза РАМН, г. Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Легочный сурфактант (ЛС) – это сложный мембранный комплекс фосфолипидов (80-90%), белков (8-10%) и углеводов (2-4%), расположенный на внутренней выстилке альвеол, обеспечивающий биомеханику дыхания и принимающий участие в реакциях врождённого и приобретённого иммунитета. При развитии инфекционного воспаления в лёгких, в частности туберкулёза, функциональная активность макрофагов, как фагоцитов, поддерживается на достаточно высоком уровне до тех пор, пока в альвеолах сохраняется повышенное содержание сурфактанта. Нарушение выработки ЛС альвеолоцитами 2-го типа приводит к преобладанию в альвеолах молодых незрелых мононуклеаров со слабо развитым лизосомальным аппаратом без признаков фагоцитоза, снижение функциональной активности мононуклеарных фагоцитов – к длительному внутриклеточному персистированию микобактерий туберкулеза и недостаточной эффективности проводимого этиотропного лечения.

**Цель исследования:** изучить особенности влияния ЛС на морфофункциональное состояние клеток как моноцитарной, так и макрофагальной дифференцировки.

**Материалы и методы.** Работа проведена на трёх модельных системах в условиях *in vitro*: моноцитарных клетках человека линии *THP-1*; «молодых» макрофагах, полученных из моноцитов *THP-1*; альвеолярных макрофагах человека, полученных от больных туберкулёзом. В экспериментах использован препарат природного лёгочного сурфактанта – сурфактант БЛ (С-БЛ, Россия, Биосурф). Анализ морфофункционального состояния моноцитов/макрофагов проведён методами световой, конфокальной лазерной и электронной микроскопии.

**Результаты.** На модели моноцитарных клеток показано, что ЛС не является непосредственным индуктором дифференцировки моноцитов в макрофаги: в присутствии сурфактанта признаки адгезии проявляют лишь единичные клетки. При этом С-БЛ оказывает непосредственное влияние на изменение морфологического статуса тех клеток, которые уже вступили в макрофагальную дифференцировку («молодых» макрофагов), стимулируя увеличение распластанности клеток и формирование отростков.

Для того чтобы оценить влияние С-БЛ на процессы созревания «молодых» макрофагов, вступивших в дифференцировку в условиях *in vivo*, проведено электронно-микроскопическое исследование материала БАЛ, полученного от больных активным туберкулёзом, где эти клетки составляют не менее 40% и не держат ультраструктурные признаки фагоцитарной активности.

Установлено, что введение препарата С-БЛ в материал БАЛ снижает число нефагоцитирующих макрофагов с 40 до 25%; стимулирует появление многочисленных микровыростов и псевдоподий, направленных к расположенным рядом кольцевидным мембранам сурфактанта; активирует лизосомальный аппарат – в цитоплазме клеток формируются крупные фаголизосомы (0,2 мкм), не характерные для контрольной группы.

Для ответа на вопрос о сохранении стимулирующего действия ЛС на макрофагальную активность исследовали особенности фагоцитоза клеток, полученных из линии *THP-1*, через 48 ч после их активации С-БЛ. В результате было установлено, что число клеток, в которых цитоплазма заполнена латексом, увеличивается до  $14,0 \pm 0,6\%$  (в контроле –  $8,6 \pm 0,5\%$ ). В контрольных клетках частицы латекса распределены преимущественно диффузно по всему объёму цитоплазмы или в виде отдельных кластеров, расположенных в районе плазматической мембраны. Это характерно как для крупных, хорошо распластанных клеток, так и для более мелких, моноцитоподобных. После стимуляции клеток С-БЛ частицы латекса, как правило, образуют скопления и агрегаты, которые могут быть локализованы как в околядерной области, так и на периферии цитоплазмы или интенсивно заполняют всю цитоплазму. Фагоцитирующие клетки отличаются интенсивным заполнением цитоплазмы латексными частицами на всем протяжении отростков. Как следует из данного эксперимента, повышенная фагоцитарная активность макрофагальных клеток сохраняется и через 48 ч после стимуляции клеток С-БЛ.

**Заключение.** Таким образом, на модели макрофагов, полученных из культуры моноцитов человека *THP-1*, и на материале БАЛ больных туберкулёзом лёгких удалось показать, что, не являясь индуктором дифференцировки моноцитов в макрофага, ЛС оказывает непосредственное воздействие на созревание и фагоцитарную активность клеток, уже вступивших в макрофагальную дифференцировку. Важным моментом является сохранение стимулирующего эффекта сурфактанта на фагоцитарную активность макрофагальных клеток и после удаления С-БЛ из среды. При этом С-БЛ не только активирует фагоцитоз в макрофагах, но стимулирует появление в цитоплазме макрофагов большего числа лизосом, и что особенно важно – фаголизосом, т. е. способствует более полному завершению процесса фагоцитоза. По-видимому, мембраны сурфактанта используются макрофагальными клетками в качестве полуфабриката мембран для быстрого увеличения поверхности плазмалеммы и формирования лизосомального аппарата.