

*Г.П.Поспехова, Л.А.Алешина, О.В.Воронина, В.Г.Вахарловский, Т.С.Разоронова*

## Клеточные маркеры непрогрессиентности при респираторном оксалоze

Государственная поликлиника № 32 ГУЗ; Государственный медицинский университет им. Павлова; ИЭМ, РАМН, ИАГ им. Отто; Институт растениеводства им. Вавилова, Санкт-Петербург

*G.P.Pospekhova, L.A.Aleshina, O.V.Voronina, V.G.Vakharlovsky, T.S.Razorenova*

## Cytological markers of non-progredient course of respiratory oxalosis

### Summary

Respiratory oxalosis (RO), a special hereditary form of obstructive lung disease accompanied by hyperoxaluria, non-progredient course, absence of allergy and several cytology markers was studied in this comparative prospective study. We have observed 2 groups of non-smoking women (71 patients with RO and 64 patients with asthma accompanied by allergy with progredient course during 5 years). We evaluated the locomotor function of the mononuclear and polynuclear blood phagocytes using the inhibition of lymphocyte migration test as an immunological marker, and the hepatocyte function using AST / ALT ratio as a cytological marker. Their prevalence was the greatest in the 1-st group and constituted 100 % for the immunological marker and 98 % for the cytological one.

We assume that function of the mononuclear phagocytes in RO probably results in the non progredient course of the disease. It relates to congenital high threshold of the immunocompetent cell sensitivity to polyclonal mitogens.

### Резюме

Респираторный оксалоz (РО) является особой наследственной формой обструктивной болезни легких, сопровождаемой гипероксаурией, непрогрессиентным течением, отсутствием аллергических проявлений и наличием ряда цитологических маркеров. Мы проводили сравнительное проспективное исследование в течение 5 лет в 2 группах пациентов (все некурящие женщины): 71 человек с РО и 64 с atopической бронхиальной астмой, аллергическими проявлениями и прогрессиентным течением. Оценивали локомоторную функцию моно- и полинуклеарных фагоцитов периферической крови в тесте РТМЛ после инкубации крови с поликлональным митогеном FGA (цитологический маркер) и функцию гепатоцитов в тесте де Ритиса с учетом соотношения трансаминаз АСТ и АЛТ (иммунологический маркер). Встречаемость этих маркеров была максимальной в 1-й группе больных и составила 100 % для иммунологического маркера и 98 % — для цитологического маркера.

Таким образом, мы полагаем, что ведущим фактором формирования непрогрессиентного течения РО является наследственно обусловленный высокий порог клеточной чувствительности иммунокомпетентных клеток к поликлональному митогену.

По официальным данным, болезни органов дыхания (БОД) занимают 1-е место в структуре заболеваемости населения Российской Федерации и 4-е место среди причин смертности (Концепция развития пульмонологической помощи 2004–2006 гг.). Лидирующая роль при этом принадлежит хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в связи с высокой прогрессиентностью [1].

Неуклонный рост заболеваемости обусловлен нерешенными проблемами первичной диагностики на амбулаторном этапе пульмонологической помощи. Не решается проблема ранней диагностики и первичной профилактики. Смещение центра диагностического процесса из государственных поликлиник в стационары и платные структуры удлинняет диагностический маршрут и исключает диагностику преморбидных состояний. Лидирующую роль в росте временной нетрудоспособности БОД играет прогрессиентность. В то же время отсутствие инструмента для скрининга прогрессиентности имеет фундаментальную основу. Так, согласно мультифакториальному

патогенезу БОД диагностический алгоритм ориентирован на ранжированный ряд диагностических признаков, которые можно рассматривать как маркеры-"свидетели", а не генераторы патологии. С появлением статусометрического метода [2] математического ранжирования — "весомости" вклада каждого диагностического показателя изучаемой патологии, стало возможным выделение классообразующего признака, т. н. маркера-генератора данного патологического состояния. Важно, что статусометрия позволяет ранжировать показатели, относящиеся к разным системам [2], и таким образом "взвесить" мультифакториальность.

Выделенная нами [3] семейная форма обструктивной болезни легких (ОБЛ) — гипероксалурический хронический обструктивный бронхит — респираторный оксалоz (РО) — отнесена к непрогрессиентным вариантам ОБЛ [4, 5]. РО является наследуемой ферментопатией, передаваемой аутосомно-доминантным способом по материнской линии — метаболической аномалией превращения глицина [6]. Генетический

дефект предположительно локализован в системе печеночных микросом [7, 8]. При этом отмечается снижение синтеза аланиновой трансферазы (АЛТ) [7], гиперсинтез оксалата, накопление и выделение избытка патологического метаболита в кровь [9], мочу, бронхоальвеолярную жидкость (БАЖ) [10]. Для РО патогномична транслокация клиренса оксалата. Так, в БАЖ концентрация оксалата превышает таковую в моче от 2 до 10 раз [10]. В связи с этим на 1-м этапе исследования, продолжавшегося 8 лет, основной причиной оксалатного воспаления считали раздражение слизистой кристаллами оксалата [10, 11]. На 2-м этапе 7-летнего поликлинического исследования появились несомненные данные в пользу классообразующего значения для РО цитологических маркеров. При статусометрическом анализе абсолютная величина иммунологического показателя функции мобильной популяции мононуклеарных фагоцитов превышала величину каждого последующего в ранжируемом ряду маркера в 2,5 раза [4]. Учитывая, что статусометрически ранжируются маркеры, относящиеся к разным системам, ранжируемый ряд формирует высококоррелирующую диагностическую ассоциацию показателей РО. Таким образом, для постановки диагноза РО необходимо наличие всех маркеров ассоциации. Классообразующий маркер регистрируется во все периоды патологии: преморбидных состояний, развернутой клинической картины и во всех фазах воспаления — обострения и ремиссии [4].

Целью настоящей работы было определение пригодности цитологических маркеров для скрининга непрогрессиентности РО как аномального хронического обструктивного бронхита (ХОБ), отличающегося генетической детерминированностью, отсутствием аллергии при достаточно четких клинико-лабораторных проявлениях обструкции бронхов и гипоксемии [4].

Суть решаемого вопроса состоит в выяснении механизма формирования непрогрессиентности и возможности ее скринирования с целью сокращения диагностического маршрута.


## Материалы и методы

При скрининге поликлинического массива ХОБЛ были сформированы 2 группы больных из некурящих женщин, альтернативных по прогрессивности и генетическому маркеру: с положительным (P+) — 1-я группа, с отрицательным (P-) — 2-я группа. В условиях диспансеризации городской поликлиники в течение 5 лет изучали информативность клеточных маркеров и течение заболевания в обеих группах. Флуктуация оксалурии изучена на больных РО в начале и конце исследования, а также на выборках 1-й и 2-й групп в зависимости от генетического макера.

1-я группа состояла из 71 человека — носителей маркеров РО непрогрессиентного течения без аллергии (P+).

2-я группа — группа сравнения — 64 человека с атопической бронхиальной астмой (БА) прогрессирующего течения и с аллергией (P-).

Использованы следующие методы:

- генетический анализ путем составления генеалогических карт 3 поколений семьи пробанда (больного РО или БА) с регистрацией генетического маркера — рыжеволосости члена семьи по восходящей материнской линии пробанда, обозначенного как P+ ;
- количественное определение концентрации оксалата в суточной моче по *S.Lartillot, G.Vogel* (1980) реактивами фирмы "Laboratoria Biorrea" (Франция) [12];
- количественное определение расхода коллагена как показателя фиброобразования воспалительного инфильтрата, отнесенного к маркерам прогрессиентности [13]. Учитывалось количество оксипролина — продукта деградации коллагена [14];
- функция внешнего дыхания (ФВД) определялась на аппарате *Pneumocreen II* ("Erich Jaeger", Германия) с компьютерным расчетом бронхиальной проходимости на уровне проксимальных VE<sub>25</sub> и дистальных бронхов VE<sub>50</sub> и VE<sub>75</sub>. Бронхиальное сопротивление (RaW) и удельная проводимость (SqW) измерялись на боди-плетизмографе фирмы "Ohio" (США).
- оценка локомоторной функции мононуклеарных и полинуклеарных фагоцитов периферической крови проводилась в тесте РТМЛ (*R.D.Nelson et al.*, 1975) модификации (*И.С.Фрейдлин, А.А.Толоян*, 1986) [15] после инкубации крови с поликлональным митогеном ФГА в ингибирующей миграцию дозе — 40 мкг. Миграция оценивалась при раздельной экспозиции: для нейтрофилов — через 6 ч, для мононуклеаров — через 24 ч. Результат оценивался как торможение при миграции ИКК от хемоаттрактанта и как стимуляция при движении в сторону к ФГА. Зона воздействия измерялась при увеличении в 50 раз в у. е. Избирательная (только для мононуклеаров) инверсия вектора локомоции (замена торможения на стимуляцию описана ранее как классообразующий диагностический цитологический маркер РО) [4];
- оценка функции гепатоцита по тесту де Ритиса учитывалась по величине соотношения индикаторной трансаминазы АСТ и секреторной — АЛТ > 1 [16], отражающей билиарный холестаз;
- прогрессиентность оценивалась по количеству urgentных эпизодов и продолжительности обострений, резистентности бронхолитической терапии, содержанию оксипролина, нарастанию дыхательной недостаточности и выходу на инвалидность.

## Результаты

Пример генеалогического анализа больной 1-й группы показан на рисунке.

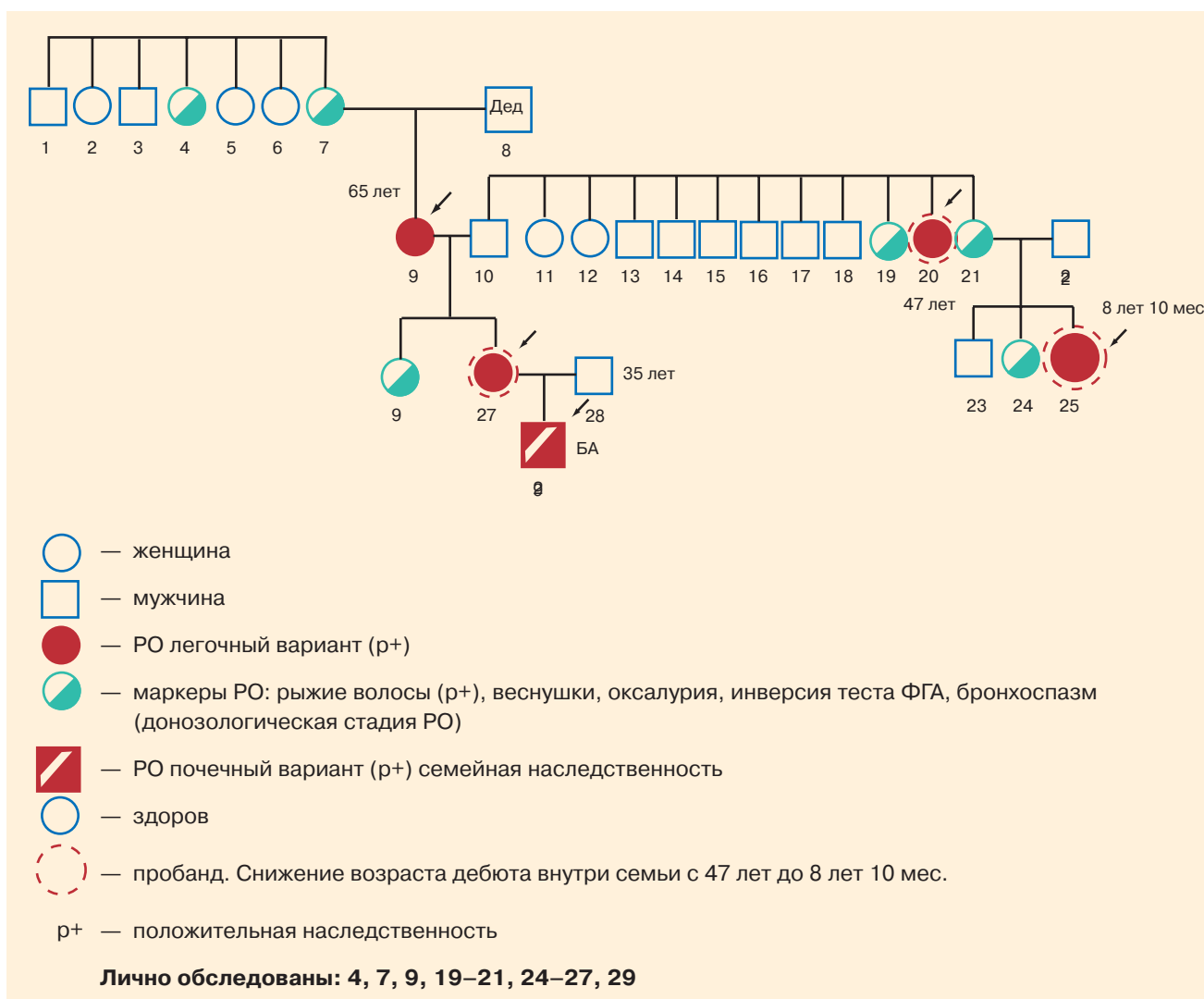


Рис. Генеалогическое дерево больной О.Г. 47 лет (РО)

Во 2-й группе генеалогических зависимостей не выявлено.

Итоги диспансерного наблюдения в течение 5 лет представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из табл. 1 и 2, встречаемость клеточных маркеров в 1-й группе наблюдения при РО была максимальной и составляла 100 % — для иммунологического маркера, 98 % — для показателя де Ритиса. При этом в течение Д-наблюдения информативность показателей не менялась. Во 2-й группе иммунологический маркер не выявлен. Биохимический цитологический маркер де Ритиса, характерный для 1-й группы, во 2-й группе отмечен в 3 % с интеркуррентной

билиарной патологией. Биохимический показатель прогредиентности — оксипролин — в суточной моче в 1-й группе наблюдения составил  $23,6 \pm 3$  % Д. Во 2-й группе наблюдения биохимический показатель прогредиентности — количество оксипролина за сутки было равно  $53,2 \pm 1,8$  % Д. Клинически и лабораторно нарастала ДН.

Оксалат мочи в 1-й группе наблюдения составил  $480 \pm 84$  мкмоль / л — в начале исследования,  $196 \pm 60$  мкмоль / л — в конце Д-наблюдения. Оксалат в моче во 2-й группе в начале наблюдения был  $84,9 \pm 49$  мкмоль / л, в конце Д-наблюдения —  $168 \pm 49$  мкмоль / л. Отмечается флуктуация оксалурии

Таблица 1  
 Диагностическое значение цитологических маркеров в формировании непрогредиентности обструктивного воспаления (данные 5-летних наблюдений на базе поликлиники № 32)

Диагноз	Наследственность	Прогредиентность	n	Цитологические маркеры	
				Иммунологический РТМЛ с ФГА инверсия миграции Ind Mo	Биохимический маркер де Ритиса АСТ / АЛТ > 1
РО	P+	-	71	Стимуляция 100 % Ind Mo – отрицательный	100 %
АБА	P-	+	64	Торможение 100 % Ind Mo – положительный	3 %

**Таблица 2**  
**Диагностическое значение показателей прогрессивности**  
**в формировании непрогрессиентности обструктивного воспаления**

Диагноз	Наследственность	n	Показатели прогрессивности				
			Аллергия	ОФВ <sub>1</sub>	Ургентность	Выход на инвалидность	Характер воспалительного инфильтрата
РО	P+	71	0	80 % <sub>дож.</sub>	0	0	макрофагальный
АБА	P-	64	100 %	70 % <sub>дож.</sub> снижение до 60 % <sub>дож.</sub>	80 %	80 %	эозинофильный

в начале и в конце диспансерного наблюдения, что характерно вообще для этого показателя. Данные о сезонной флуктуации оксалата мочи представлены в табл. 3.

ФВД в 1-й группе наблюдения, оцениваемая по комплексу выше названных показателей, существенно не изменилась. Дыхательная недостаточность соответствовала 0–I степени. Во 2-й группе наблюдения дыхательная недостаточность в конце исследования увеличилась до II степени.

## Обсуждение

Прежде всего предстояло оценить значимость оксалурии как маркера-генератора оксалатного воспаления. Известно, что оксалурия широко флуктуирует в популяции [6] и сезоне (табл. 3) исследования [4]. Кроме того, ранее полученные нами данные об увеличении суточной оксалурии, концентрации оксалата мочи в фазу ремиссии РО и снижении концентрации оксалата в фазу обострения [4] в сочетании с данными о меньшем содержании оксалата в конденсате выдыхаемого воздуха у больных РО, по сравнению с контролем [17], дают основание полагать, что, хотя оксалатный маркер и входит в состав диагностического ядра, оксалурию нельзя отнести к маркерам-генераторам РО.

Результаты оценки зависимости оксалурии от генетического маркера даны в табл. 4.

В связи с этим ирритативный механизм патогенеза РО не выдерживает критики.

Важно отметить, что показателем различного клинического течения выступает функциональная способность клетки иммунного надзора в системе неспецифической резистентности. Корреляция между уровнем прогрессивности воспаления и функци-

ональными свойствами мобильной популяции лимфоцитов свидетельствует об их высокой сопряженности. С такой постановкой вопроса согласуются существующие взгляды [18].

Если рассматривать иммунную систему как совокупность лимфоидных органов без анатомической связи, то можно полагать, что мигрирующая популяция клеток является главной структурой иммунной системы, осуществляющей стратегию согласованности отдельных ее звеньев.

Основа согласованности функций иммунной системы — процесс распознавания "свой–чужой".

"Чужими" являются осколки мутантных клеток, поликлональные митогены (в т. ч. пищевые). Здесь главную роль играет величина пороговой чувствительности ИКК.

Повышенная цитологическая толерантность ИКК в системе естественного иммунитета позволяет этим осколкам и мутированным фрагментам длительно находиться в организме. Последнее подтверждается при РО внутрифагосомным расположением кристаллов оксалата в альвеолярных макрофагах [4]. Известно, что оксалат обладает митогенными и цитотоксическими свойствами [19], формирующими особый тип воспалительного инфильтрата — макрофагальный [4] с присущей непрогрессиентностью, обеспеченной высокой цитологической толерантностью ИКК. Это предположение подтверждается известными фактами о наследовании силы иммунного ответа [20].

Альтернативно: сниженная толерантность ИКК-мононуклеаров, по-видимому, и формирует гиперреактивный ответ (аллергическую реакцию на митогенные фрагменты "чужого" путем генерализации провоспалительной цитокинемии). Незавершенность и пролонгация отдельных стадий фагоцитоза при аллергическом воспалении, по-видимому, обуславливает прогрессивность.

Указанное предположение согласуется с точкой зрения ряда авторов о причинах, обуславливающих исходные различия воспалительных инфильтратов [21, 18]. Они связывают исходные различия с генным повреждением функциональной активности мигрирующей популяции клеток (ИКК) путем уменьшения или извращения клеткой секреции короткодистантных цитокинов, или аутокринной функцией Мо-Ма-системы [19].

Эта гипотеза также согласуется с известными фактами о наследовании силы иммунного ответа [20].

**Таблица 3**  
**Сезонная флуктуация суточной оксалурии**  
**у одних и тех же больных РО в фазу обострения**  
**(ферментный метод), ммоль / 24 ч**

n	Месяц	M ± m
6	февраль	0,401 ± 0,02
5	апрель	0,168 ± 0,02
10	май	0,252 ± 0,018
7	ноябрь	0,413 ± 0,027

Примечание: разное число наблюдений по месяцам обусловлено количеством амбулаторных визитов; оксалурия измерялась по параметру суточной экскреции.

Таблица 4  
Суточная оксалурия у больных РО  
в зависимости от наличия генетического маркера [12]

Группа	Диагноз	Пол	n	Наследственный маркер	Оксалурия			
					ммоль / 24 ч	P	мкмоль / л	P
1	РО	ж	8	P+	0,617 ± 0,12	0,01	396 ± 81,6	0,01
2	Контроль	ж	7	P-	0,246 ± 0,04	0,05	164,3 ± 34,2	0,05

Примечание: контроль — из 2-й группы выделены 7 человек; оксалурия измерена по двум параметрам — за сутки и концентрация в литре мочи.

## Выводы

1. Отнести клеточный тест — инверсию вектора избирательной клеточной реакции на поликлональный митоген ФГА в тесте РТМЛ к маркерам-генераторам непрогредиентности РО.
2. Считать инверсию вектора целенаправленной миграции мигрирующих фагоцитов у больных РО маркером высокого порога клеточной чувствительности ИКК к поликлональному митогену как ведущего фактора формирования непрогредиентности.
3. Рассматривать как генетическую общность функциональные показатели системы мононуклеарных фагоцитов и формирование характеристики хронического обструктивного воспаления.
4. Предполагается, что прогрессивность аллергического воспаления обеспечивается кодированием низкого порога клеточной чувствительности в системе мигрирующих фагоцитов.

## Литература

1. Чучалин А.Г. Обструктивные болезни легких. М.; 1998. 11–26.
2. Разоренов Г.И., Поддубский Г.А. Автоматизированная количественная оценка состояния организма (медицинская статусметрия). Препринт АН СССР. Л.; 1985. 48.
3. Поспехова Г.П. Системное нарушение солевого обмена как критерий скрининга наследственных форм ХНЗЛ у женщин. В кн.: Сборник трудов 1-го Ленинградского мед. ин-та. Л.; 1989. 25–27.
4. Поспехова Г.П. Обструктивные болезни легких при нарушении оксалатного обмена: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Л.; 1997.
5. Pospekhova G., Gaitskhokiv V., Voronina O., Vacharlovsky V. Visceral oxalosis in patients with favourable course of COPD. In: ERS. Annual. Congress. 1999. 3384.
6. Янагаси Тосиюки Кадзунори. Биохимия наследственности. М.: Медицина; 1979. 29.
7. Danpure C.J. et al. Cytosolic compartmentalisation of hepatic alanine aminotransferase in patients with aberrant peroxisomal biogenesis and its effect on oxalate metabolism. J. Inher. Metab. Dis. 1994; 17 (1): 27.
8. Toussaint C., De Paul L. et al. Primary hyperoxaluria. Nephrologie 1995; 16 (6): 399.
9. Волков В.Т. Оценка уровня щавелевой кислоты и кальция при бронхиальной астме. В кн.: 1-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Киев; 1990. № 53.
10. Пат. № 2143695. Россия. Способ дифференциальной диагностики хронической обструктивной болезни легких / Поспехова Г.П., Герасин В.А., Федосеев Г.Б. // Бюл. ВНИИПЭ. 1999; 27.12.
11. Поспехова Г.П., Федосеев Г.Б., Разоренова Т.С., Матвеева Е.Л. Значение почечного клиренса оксалата при респираторном оксалозе. В кн.: 8-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. М.; 1998. 244.
12. Lartillot S., Vogel G. // Feuillet Biol. 1980; 21 (115): 43–48.
13. Молоканов К.П. Ранние стадии силикоза. Л.; 1968. 14–21.
14. Крель А.А., Фурцева Л.А. Методы определения оксипролина. Вopr. мед. химии 1968; 14 (6): 635.
15. Nelson R. et al., 1975; модификация: Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Способ определения функциональной активности фагоцитирующих клеток. А. св. № 1254388 от мая 1986 г. Бюл. ВНИИПЭ 1986; 32.
16. Титов В.Н. Патофизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени. Санкт-Петербург. врач. ведомости 1996; 3: 31–35.
17. Пинегин Б.В. Регуляция воспаления. Иммунология 2000; 3 (1): 61–69.
18. Esterwez. V.E. et al. Dysfunction of Monocyte Macrophage system. Acta Paediatr. Scand. 1989; 78 (1): 87.
19. Контроль и регуляция иммунного ответа / Петров Р.В., Хаитов Р.М., Манько В.М., Михайлова Н.А. Л.; 1981: 54–59.
20. Ивчик Т.В., Мхеидзе М.О., Кокосов А.Н. и др. Изучение 27 генетических маркеров у больных ХБ. В кн.: 6-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Новосибирск; 1996. № 961.

Поступила 10.02.04  
© Коллектив авторов, 2005  
УДК 616.24-008.7-074