

К МОРФОЛОГИЧЕСКОМУ ИЗУЧЕНИЮ БАЗОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ

Кадилов Жонибек Файзуллаевич

Доцент кафедры Инфекционных болезней, СамГМУ

Маматова Муборак Нурпулатовна

и.о.профессора кафедры КЛД ФПДО, СамГМУ,

Алпомишева Адиба Фаридуновна, врач лаборант

Рахматуллаева Нигина Мансуровна, врач лаборант

Аннотация. Базофилы играют активную роль в аллергическом воспалении, аутоиммунитете и гематологических злокачественных новообразованиях. Они отличаются от других лейкоцитов характерными метахроматическими темно-фиолетовыми цитоплазматическими округлыми гранулами.

В связи с предполагаемой физиологической ролью базофильных гранулоцитов (биосинтез и выделение гепарина, гистамина и образование гиалуроновой кислоты) повысился интерес к изучению этих клеточных элементов крови.

Ключевые слова: базофильные гранулоциты, полиморфноядерными лейкоциты, протоплазматические гранулы

Базофилы составляют наименьшую долю гранулоцитов – до 1%. Они имеют сферическую форму и диаметр от 10 до 16 мкм (микрометров), что немного меньше, чем эозинофилы и нейтрофилы. Ядро представлено в форме гантели.

Гранулы внутри клетки имеют цвет от темно-фиолетового до синего при просмотре под микроскопом. Как и все лейкоциты, они образуются в костном мозге, их срок жизни составляет всего несколько дней. В гранулах содержится гистамин и гепарин [1, 4, 12].

Базофилы представляют собой клетки крови, которые относятся к группе клеток под общим названием лейкоциты (или белые клетки крови). Эти клетки - основа иммунной системы, а их цель - защитить организм от опасных чужеродных агентов, например бактерий или вирусов. Все клетки крови, включая лейкоциты, эритроциты и тромбоциты, происходят из общих стволовых клеток, их дифференцировка происходит в костном мозге. Вообще, количество базофилов очень низкое, поэтому их нулевое значение в лейкоцитарной формуле вполне допустимо. Тем не менее, это не значит, что они вовсе отсутствуют. В абсолютных цифрах – присутствуют всегда. Если же снижены и абсолютные

значения, то это может указывать на поражение костного мозга на фоне длительного приема антибиотиков, цитостатиков, химиотерапии или лучевой терапии [3, 5, 11].

Цель исследования. В связи с предполагаемой физиологической ролью базофильных гранулоцитов (биосинтез и выделение гепарина, гистамина и образование гиалуроновой кислоты) повысился интерес к изучению этих клеточных элементов крови.

Для морфологического изучения базофилов мы использовали лейкоконцентрат, применив модифицированный метод фракционирования составных частей крови с помощью трилона Б (динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты).

Фагоцитарные лейкоциты, к которым относятся гранулоциты и моноциты, играют важную роль в процессе фагоцитоза - поглощении чужеродных клеток. Гранулоциты названы так из-за их зернистого вида. Их также называют полиморфноядерными лейкоцитами. Три типа гранулоцитов представляют собой нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Моноциты, наряду с лимфоцитами, считаются мононуклеарными лейкоцитами.

Базофилы представляют собой наименее распространенные гранулоциты, составляющие ~ 0,5% лейкоцитов периферической крови. Базофилы долгое время ошибочно считались тучными клетками, циркулирующими в крови, из-за их фенотипического сходства с резидентными тучными клетками, включая поверхностную экспрессию высокоаффинного рецептора IgE и высвобождение гистамина в ответ на различные раздражители [2, 6, 8]. Фактически, в клинических условиях базофилы часто используются в качестве суррогата тучных клеток, находящихся в тканях, для диагностики аллергии. Тем не менее, базофилы и тучные клетки отличаются друг от друга по нескольким аспектам. Базофилы обычно циркулируют в крови, тогда как тучные клетки находятся в периферических тканях. Базофилы имеют гораздо более короткую продолжительность жизни, чем тучные клетки (1-2 дня).

Базофилы выделяют гистамин, брадикинин и серотонин при активации в результате травмы или инфекции. Эти вещества важны для воспалительного процесса, поскольку они повышают проницаемость капилляров и, таким образом, увеличивают приток крови к пораженному участку. Базофилы также участвуют в возникновении аллергических реакций. Кроме того, гранулы на поверхности базофилов выделяют природный антикоагулянт - гепарин. Он обеспечивает баланс путей свертывания крови [7, 9, 10].

Базофилы играют активную роль в аллергическом воспалении, аутоиммунитете и гематологических злокачественных новообразованиях. Они

отличаются от других лейкоцитов характерными метахроматическими темно-фиолетовыми цитоплазматическими округлыми гранулами.

Проверочные исследования показали увеличение концентрации лейкоцитов и базофилов в 25-40 раз и более по сравнению с исходной.

Метод концентрации лейкоцитов позволил более детально изучить степень грануляции, зрелости и величину базофилов крови в норме и при патологии.

Материал и методы. Мы провели 65 исследований базофилов в лейкоконцентрациях, в том числе у 25 здоровых, 10 больных атеросклерозом и 10 больных инфарктом миокарда в динамике. У каждого исследуемого в нескольких мазках концентрата насчитывалось от 25 до 100 базофилов (в среднем 50).

Поскольку в настоящее время нет единого мнения в отношении функциональной оценки базофильных гранулоцитов, мы нашли возможным по характеру и количеству протоплазматических гранул, отражающих, вероятно, и активность гепариноцитов крови, выделить 4 группы клеток (см. рисунок), между которыми есть заметные различия.

Нулевая группа - цитоплазма базофилов содержит пылевидные включения, часть гранул лежит внеклеточно (дегранулированные клетки) см.рисунок, а). 1-я группа - гранулы расположены по периферии клеток в виде кольца или полулуния. В области ядра гранул нет или возможно наличие единичных назвали их краевыми формами (см. рисунок, б). 2-я группа - гранулы лежат по периферии клетки и в виде дорожки располагаются и на ядре (срединные формы) (см. рисунок, в). 3-я группа - большое число крупных, округлой формы гранул равномерно заполняет цитоплазму, располагаясь обильно и на самом ядре, изредка сливаясь в компактную массу, из-за которой плохо, а порой совсем невозможно различить ядро (покрывающие формы) (см. рисунок, 2)

Изредка встречаются еще базофилы с наличием зерен за пределами клетки с разрушением цитоплазматической оболочки (разрушенные формы).

Базофильные лейкоциты первыми реагируют на появление в организме аллергенов, инфекции или других повреждающих факторов, устремляются к ним и запускают процесс дегрануляции – выброса содержимого внутрибазофильных гранул во внешнюю среду. Феномен разрушения и дегрануляции базофилов тесно связан с их функциональными особенностями и реакцией на воздействие гормонов.

При идентификации базофилов в периферической крови с использованием цитофлуориметра возникает ряд проблем. Данную популяцию клеток невозможно выделить по параметрам светорассеяния ввиду того, что базофилы распределены преимущественно в регионе мононуклеаров, обладают небольшими размерами и невысокой гранулярностью (рис. 1). Следовательно,

для гейтирования базофилов необходимы моноклональные антитела к ряду специфических маркеров, которые позволяли бы выделять базофилы так, чтобы лимфоциты, моноциты, дендритные клетки и различные минорные субпопуляции клеток отсутствовали в регионе даже в небольшом количестве. Поскольку для исследования активации и дегрануляции базофилов рекомендовано использовать комбинацию нескольких антител, выбор маркеров для идентификации должен быть ограничен их минимальным количеством. Критериями выбора антител, кроме специфичности для базофилов, флуоресцентной метки и клона, служат стабильность экспрессии и независимость ее интенсивности от состояния активации или атопического фона у пациента.

Для получения четкой морфологической картины и дифференциации деталей ядра и цитоплазмы мы несколько недокрашивали мазки так, чтобы ядра были бледнее окраски гранул.

С целью установления нормальных соотношений отдельных групп базофилов провели морфологические исследования у 25 здоровых (13 мужчин и 12 женщин в возрасте от 17 до 50 лет).

У практически здоровых людей 49,6% циркулирующих в периферической крови базофилов составляют клетки 3-й группы, содержащие в цитоплазме значительное число преимущественно крупных гранул.

Треть клеток, 33,5%, относится ко 2-й и 11,7% - к 1-й группе, с меньшим числом протоплазматических гранул. Дегранулированные клетки наблюдаются редко (5,2%). Изредка встречаются единичные разрушенные клетки.

Ядро базофильного лейкоцита имеет более молодую структуру и малую наклонность к сегментации. Форма ядра позволяет разделить все встречающиеся в мазках базофильные лейкоциты на следующие типы: клетки с круглым или овальным ядром и равномерным распределением хроматина, напоминающие миелоциты нейтрофильного ряда (50%); базофилы с почковидным ядром метамиелоцита (21,8%); сегментированные (16,1%), причем ядро редко разделяется более чем на 2 части. В 11,9% случаев вследствие очень густого расположения гранул было невозможно различить ядро.

Такое распределение на первый взгляд нарушает известное правило гармоничного распределения клеток по степени их дифференциации.

Однако в связи с этим следует упомянуть о преобладании базофильных миелоцитов (1,5%) над метамиелоцитами (0,1%) и сегментоядерными базофилами (0,25%) в стерильном пунктате.

При измерении окуляр-микроскопом ряд распределения величин базофилов имеет правильный характер, что свидетельствует о качественной однородности изучаемой группы.

Диаметр базофильного гранулоцита варьирует от 8 до 16 мк. Размер большинства (78%) клеток практически здоровых людей составляет 10-12 мк при среднем диаметре 11,7 мк. Большие (1,2%) и малые клетки встречаются редко (1,6%).

Статистическая обработка показателей отдельно для мужчин и женщин выявила некоторые несущественные колебания. У мужчин несколько чаще, чем у женщин, встречаются базофилы 3-й группы с большей метахроматической зернистостью в протоплазме (51,7 и 47,3% соответственно), а также базофилы с круглым ядром миелоцита (58,8% и 41% соответственно). Базофильные лейкоциты в связи с накоплением в гранулах гепарина и гепариноидов принимают активное участие в регуляции гепаринового обмена [4, 5].

Это побудило нас исследовать базофилы в мазках лейкоконцентратов больных с изменениями в коагуляционном равновесии крови.

В остром периоде инфаркта миокарда наблюдается статистически достоверное уменьшение числа базофилов 3-й группы возрастания числа клеток 1-й и 2-й группы (61,1%) с немногими редко расположенными в протоплазме зернами и увеличение числа дегранулированных форм (16,3%). Отмечается тенденция к увеличению базофилов малого размера (8-10 мк). В поздней стадии инфаркта миокарда в основном сохраняются соотношения отдельных групп клеток, но уменьшается число дегранулированных базофилов (4%). Эти соотношения у отдельных обследованных довольно постоянны, что позволяет пользоваться средними величинами.

Результаты. Таким образом, уменьшение в остром периоде инфаркта миокарда числа клеток, богатых протоплазматическими зернами, и увеличение числа дегранулированных форм, вероятно, говорит об усиленном гепариновыделении и является защитной реакцией организма, обуславливающей у части больных кратковременную фазу гипокоагуляции. Гипокоагуляция у больных инфарктом миокарда сменяется длительной волной пиперкоагуляции, которая сопровождается уменьшением содержания гепарина крови, увеличением числа базофилов с немногими гранулами в цитоплазме и уменьшением числа, очевидно, наиболее активных в функциональном отношении дегранулированных форм. Уменьшение образования и выделения гепарина способствует дальнейшему снижению антикоагулянтного потенциала крови после ликвидации острых нарушений коронарного кровообращения. Морфологические изменения базофилов в известной мере совпадают с теми, которые наблюдаются в тучных клетках, являющихся основным источником образования гепарина в организме, что позволяет объединить их в единую систему гепариноцитов, играющих существенную роль в нарушении динамического равновесия в системе свертывания крови.

Снижению уровня гепарина в крови при атеросклерозе соответствует увеличение числа базофилов, бедных зернистостью в протоплазме и, очевидно, менее полноценных в функциональном отношении.

Ранее одним из нас было показано регулирующее влияние гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы на численность базофилов крови. После однократного введения гидрокортизона мы наблюдали разрыв мембран, выход гранул из клеток и значительное увеличение числа дегранулированных и разрушенных форм базофилов.

В аналогичных опытах при заметном увеличении числа дегранулированных форм базофилов отмечали одновременное увеличение содержания кислых мукополисахаридов в сыворотке крови, можно рассматривать как физиологическую контррегуляцию во время стресса.

Выводы. Результаты проведенного нами исследования показывают, что метод лейкоконцентрации может быть использован для морфологического изучения базофильных гранулоцитов в норме и при гемокоагуляционных нарушениях. Достоинством этого метода является простота и бережное отношение к форменным элементам крови. Для практических целей просмотр 10-15 базофилов в мазке лейкоконцентрата уже дает представление о степени грануляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева Н. М. и др. Тест-система для оценки активации базофилов в цельной периферической крови» аллергофлюу». подход к стандартизации аллергенов для базофильного теста // Справочник заведующего КДЛ Учредители: ООО КФЦ «Аktion». – №. 6. – С. 17-27.
2. Кадыров Ж.Ф., Маматова М.Н., Осланов А.А. Влияние пандемии Covid-19 на борьбу с туберкулезом // Биология ва тиббиёт муаммолари. Илмий журнал. - 2023, №1 (142).
3. Куанова Г.С. Стафилококки и стафилококковые инфекции бактериологические аспекты профилактики стафилококковых заболеваний // Вестник Атырауского университета. 2018;49(2):147-151.
4. Луговская С. А. Современный автоматизированный анализ крови: клинико-диагностическое значение // Медицинский алфавит. – 2010. – Т. 4. – №. 20. – С. 6-8.
5. Маматова М.Н. Study of the biological properties of rabies by the method of diagnosis of the "Gold standard" // Scientific Journal, Colden Brain. -2024, Volum 2 (4).
6. Маматова М.Н. Гистологическая диагностика неэффективного эритропоэза // Ж. «Тиббиётда янги кун». Т., № 7. 69.

7. Романова И.В., Гончаров А.Е., Горбунов В.А. Роль базофилов в аллергических реакциях и цитофлуориметрические методы определения их активации // Весці нацыянальнай акадэміі навук беларусі. серыя медыцынскіх навук. -2014, № 4.
8. Уханова О. П. Изучение влияния моноклональных антител к IgE на активацию базофилов периферической крови больных сезонным аллергическим ринитом //Аллергология и иммунология. – 2010. – Т. 11. – №. 1. – С. 54-56.
9. Шайкулов Х.Ш., Исокулова М.М., Маматова М.Н. Степень бактериоциногенности антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, выделенных в Самарканде // Eurasian journal of medical and natural sciences. - 2023, № 3(1).
- 10.Redrup A.C., Howard B. P., MacGlashan D. et al. // J. Immunol. 1998. Vol. 160, N 4. P. 1957–1964. 19. Ocmant A., Peignois Y., Mulier S. et al. // J. Immunol. Meth. 2007. Vol. 320, N 1–2. P. 40–48.
- 11.Baselga R. Staphylococcus aureus capsule and slime as virulence factors in ruminant mastitis // Vet. Microbiol. -1994.-V.39.-N.3-4.-P. 195-204.
- 12.Corbella X. Staphylococcus aureus nasal carriage as marker for subsequent staphylococcal infections in intensive care unit patients // Eur. J. Clin. Microbiol. Infekt. Dis.-1997. - Vol.16, №5.-P.351-357.