

**Д.Ф. Сергиенко, О.А. Башкина, Н.А. Белопасова,
Н.Б. Касимова, М.С. Шашина**

СОСТОЯНИЕ ФАКТОРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»

Целью исследования явилось определение ключевых факторов неспецифической резистентности у 118 детей с муковисцидозом (МВ). Исследования показали, что при хроническом носительстве *Pseudomonas aeruginosa* и/или *Staphylococcus aureus* у больных МВ уровень бактерицидной и лизоцимальной активности сыворотки крови, уровня С5а компонента комплемента коррелирует с остротой воспалительного процесса в легких, в связи с чем они могут рассматриваться как маркеры воспаления и служить дополнительными лабораторными критериями диагностики фазы бронхолегочного процесса. При обострении бронхолегочного процесса у детей с *Burkholderia cepacia* наблюдается анергия факторов неспецифической защиты, что резко повышает риск септических осложнений.

Ключевые слова: муковисцидоз, дети, неспецифическая резистентность.

D.F. Sergienko, O.A. Bashkina, N.A. Belopasova,
N.B. Kasimova, M.S. Shashina

THE CONDITION OF FACTORS OF THE NONSPECIFIC RESISTANCE IN CHILDREN WITH MUCOVISCIDOSIS

The aim of investigation was to determine the key factors of nonspecific resistance in 118 children with mucoviscidosis (MV). It was shown that in case of chronic *Pseudomonas aeruginosa* and-or *Staphylococcus aureus* in patients with MV the level of bactericidal and lysozymal activity of blood serum, the level of C5a of compliment component may correlate with the sharpness of inflammatory process in the lungs and in this connection their definition may be used as the marker of inflammation and serve as an additional laboratory criteria of diagnostics of phase in case of broncho-pulmonary process. In aggravating broncho-pulmonary process in children with *Burkholderia cepacia* it was observed the phenomena of anergy of factors of nonspecific resistance which may sharply increase the risk of septic complications.

Key words: mucoviscidosis, children, nonspecific resistance.

Муковисцидоз (МВ, кистозный фиброз поджелудочной железы) – наиболее частое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутацией гена CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), характеризующееся клиническим полиморфизмом [1, 2]. В результате исследований последних лет обнаружено, что хронический воспалительный процесс при муковисцидозе поддерживается за счет дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов, а именно ИЛ1, ИЛ6, ИЛ8 и ИЛ10. Это, в свою очередь, приводит к нарушению продукции и регуляторных отношений Th1 и Th2-лимфоцитов [3, 4, 5, 6, 7]. Специфические иммунологические реакции протекают на фоне обязательного, быстро развивающегося неспецифического адаптационного механизма и между этими механизмами существует тесная связь, благодаря чему рассматриваться они должны как единое целое.

В связи с этим, несомненный интерес представляет углубленное изучение неспецифических детоксицирующих систем организма у больных, страдающих МВ, в частности, системы лизоцима и бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК).

Анализируя проведенные исследования по изучению ключевых факторов неспецифической защиты у больных с муковисцидозом, можно отметить, что авторами не оценивалась динамика показателей в зависимости от фазы, степени тяжести заболевания и характера возбудителя [6, 7]. Исследования проводились без учета возраста пациентов либо у взрослого контингента больных. В связи с разными методологическими подходами при

определении БАСК, лизоцима, комплемента, ограниченным количеством больных исследования носят крайне фрагментарный, а результаты, подчас, противоречивый характер.

Все вышеперечисленное диктует необходимость углубленного изучения основополагающих показателей неспецифической защиты (БАСК, лизоцим, комплемент) у больных муковисцидозом с помощью современных методов исследования на разных этапах развития патологического процесса.

Цель исследования. Изучение динамики показателей неспецифической резистентности (БАСК, лизоцимной активности сыворотки крови и секрета ротовой полости, концентрации компонентов комплемента С3 и С5а в сыворотке крови) при муковисцидозе у детей с учетом характера возбудителя и фазы бронхолегочного процесса.

Материалы и методы. Основу исследования составили 118 детей с диагнозом муковисцидоз в возрасте от 1,5 месяцев до 18 лет, находившиеся на лечении в отделении медицинской генетики детской республиканской клинической больницы г. Москва. Во всех случаях наблюдений (100%) имела место смешанная форма МВ. Распределение по полу: девочек – 79 человек, мальчиков – 39, что в процентном соотношении составляло 65,7% и 34,3% соответственно. Все дети были разделены на 4 группы в соответствии с выявленной доминирующей контаминацией тем или иным возбудителем при изучении микробиологического пейзажа мокроты. Первую группу (52 человека) составили пациенты, у которых главенствующим микробным агентом, обуславливающим инфекционный процесс в легких, являлась *Pseudomonas aeruginosa*. У пациентов второй группы (23 ребенка) выявлен хронический высеv *Staphylococcus aureus*, а в третьей (27 детей) – инфекционный процесс индуцировался *Burkholderia ceracia*. Четвертую группу (10 детей) составили пациенты, у которых при микробиологическом исследовании мокроты диагностически значимого роста какого либо возбудителя не определялось. Каждая группа была подразделена на 2 подгруппы в соответствии с фазой воспалительного процесса: обострение и ремиссия. У всех пациентов помимо стандартизированных клинико-лабораторных исследований определялась бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), активность лизоцима в сыворотке крови (АЛС) и в секрете ротовой полости (АЛР), сывороточная концентрация основных компонентов комплемента - С3 и С5а. Исследование АЛС и АЛР проводилось автоматизированным микрометодом. Определение БАСК проводилось фотонейфелометрическим методом по О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой в модификации О.В. Шепелева (1997). Содержание С3 и С5а в сыворотке крови определяли с помощью коммерческого иммуноферментного набора (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург). Чувствительность метода – 10 пкг/мл.

Результаты исследования. Полученные результаты представлены в таблицах 1, 2, 3.

Таблица 1

Состояние факторов неспецифической резистентности у больных с муковисцидозом при контаминации *Pseudomonas aeruginosa*

Фаза заболевания	Морфологические особенности	Лизоцим слюны мкг/мл	Лизоцим сыворотки мкг/мл	БАСК %	С3 мг/мл	С5а нг/мл
Обострение (n=35)	Без учета морфологических изменений в легких	29,1±2,1**	11,4±1,8*	49,12±3,6*	1,4±0,07	63,7±7,3*
	С наличием бронхоэктазов N=9	43,3±2,8	8,4±0,6	38,1±3,9	1,3±0,02	67±4,7
	Без бронхоэктазов	30,2±3,4	12,1±1,1	52,4±4,6	1,49±0,03	53±3,1

	N=26					
Неполная ремиссия (n=17)		21,1±1,8	7,8±0,8	35,7±2,6	1,33±0,06	47,1±4,6
Норма		37,8±2,1	7,9±0,3	25,1±3%	0,84±0,25	14,3±0,9

Примечания:

* - достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,05$

** - достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,001$

Во время обострения отмечено повышение БАСК до 49,2%, что в 2 раза выше, чем у здоровых детей (норма 25±3%). Нарастание БАСК обусловлено повышением концентрации лизоцима в сыворотке крови и С3, С5а компонентов комплемента, осуществляющих основной путь активации и хемотаксический эффект для нейтрофилов. Эти изменения вызваны повышением антигенной нагрузки вследствие нарастания в бронхолегочном тракте концентрации возбудителя.

Однако, несмотря на повышение показателей неспецифической резистентности в крови, уровень лизоцима в секрете ротовой полости, даже учитывая тенденцию к повышению во время обострения бронхолегочного процесса, не достигает показателей, которые регистрируются у условно здоровых детей (29,1±2,1 и 37,8±2,1 мкг/мл). По всей видимости, это связано, с одной стороны, с действием экзотоксинов возбудителя, с другой, с высокой концентрацией хлоридов, способной инактивировать естественные антибиотики. Постоянный сниженный уровень лизоцима в секрете ротовой полости может способствовать персистенции микроорганизма в дыхательных путях и обсеменению желудочно-кишечного тракта.

Анализ полученных данных свидетельствует, что у детей со сформированными бронхоэктазами наблюдается незначительная активация факторов неспецифической резистентности в сыворотке крови в период обострения по сравнению с больными без грубых морфологических изменений в легких. Эти результаты констатируют наличие грубых нарушений в фагоцитарном звене и могут косвенно свидетельствовать о формировании бронхоэктазов у детей с МВ при наличии синегнойной инфекции.

В период ремиссии наблюдалось снижение напряженности факторов неспецифической защиты, однако показатели БАСК и компонентов комплемента сохраняли незначительную активность, что обусловлено хроническим воспалительным процессом и невозможностью элиминации возбудителя.

Таблица 2

Состояние факторов неспецифической резистентности у больных с муковисцидозом при контаминации *Burkholderia cepacia*

Фаза заболевания	Лизоцим слюны мкг/мл	Лизоцим сыворотки мкг/мл	БАСК %	С3 мг/мл	С5а нг/мл
Обострение N=20	14,39±2,1**	8,9±0,8	12,3±1,2**	1,18±0,09	87,6±7,3**
Неполная ремиссия N=7	28,2±1,8	9,2±0,6	36,7±5,6	1,05±0,08	45,75±4,6
Показатели нормы	37,8±2,1	7,9±0,3	25,1±3%	0,84±0,25	14,3±0,9

Примечания:

*- достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,05$
 ** - достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,001$

У детей, инфицированных *Burkholderia ceracia*, несмотря на выраженный воспалительный процесс, тяжелое или очень тяжелое состояние, наблюдалась анергия неспецифических факторов защиты. Уровень лизоцима сыворотки крови, С3 компонента комплемента не отличались от показателей здоровых детей, а уровень бактерицидной активности сыворотки крови, как и лизоцимная активность секрета ротовой полости, были снижены почти вдвое. В условиях дефицита ключевых факторов неспецифической защиты антигенная нагрузка сопровождается избыточным накоплением повреждающих компонентов иммунного ответа и токсических метаболитов (ЦИК, свободных радикалов), которые способны приводить к повреждению морфологических структур органа. Снижение показателей неспецифической защиты в период обострения отражает глубокие нарушения в системе иммунитета и служит неблагоприятным прогностическим признаком, а также свидетельствует о высокой вероятности септических осложнений.

Таблица 3

Состояние факторов неспецифической резистентности у больных с муковисцидозом при контаминации *Staphylococcus aureus*

Фаза заболевания	Лизоцим слюны мкг/мл	Лизоцим сыворотки мкг/мл	БАСК %	С3 мг/мл	С5а нг/мл
Обострение N=12	56,39±2,1*	10,6±0,8*	33,3±2,9*	1,4±0,12	53,75±4,3**
Ремиссия N=11	38,2±2,8	7,6±0,5	24,7±1,9	1,15±0,06	34,6±2,6
Показатели нормы	37,8±2,1	7,9±0,3	25,1±3%	0,84±0,25	14,3±0,9

Примечания:

*- достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,05$
 ** - достоверность различий между показателями в период обострения и ремиссии $p < 0,001$

При контаминации стафилококком в период обострения наблюдается активация не только общих, но и местных факторов неспецифической резистентности более 20% от нормы. В период ремиссии – показатели стремятся к нормальным значениям, за исключением С5а компонента комплемента.

Выводы. Таким образом, подводя итог изложенному, можно утверждать, что у больных МВ имеют место выраженные изменения показателей неспецифической резистентности как в сыворотке крови, так и на слизистой оболочке. Наши исследования показали, что при хроническом носительстве *Pseudomonas aeruginosa* и/или *Staphylococcus aureus* у больных МВ уровень бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, уровень С5а компонента комплемента коррелируют с остротой воспалительного процесса в легких. В связи с чем данные показатели могут рассматриваться как маркеры воспаления и служить дополнительными лабораторными критериями диагностики фазы бронхолегочного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Петрова Н.В. Муковисцидоз: достижения и проблемы на современном этапе // Медицинская генетика. – 2004. – № 9. – С. 398-406.
- Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Воронкова А.Ю. [и др.]. Муковисцидоз: современные достижения и актуальные проблемы. – М., 2008. – 104 с.

3. Певницкий Л.А., Пухальский А.Л., Капранов Н.И. [и др.]. Иммунологический мониторинг больных муковисцидозом. Значение различных лабораторных показателей // Вестник РАМН. – 2000. – № 5. – С.40-46.
4. Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Пухальская Д.Д. [и др.]. Особенности воспалительного процесса у больных муковисцидозом // Пульмонология. – 2006. – Приложение. – С. 81-83.
5. Berger M., Sorensen R., Tosi M. [et al.]. Complement receptor expression on neutrophils at an inflammatory site the pseudomonas-infected lung in cystic fibrosis // Clin. Invest. – 1989. – Vol. 84, № 1. – P.1303-1312.
6. Huhn R., Pennline K, Radwanski E.. Effects of single intravenous doses of recombinant human interleukin-10 on subsets of circulating leukocytes in humans // Immunopharmacology. – 1999. – Vol. 41, № 4. – P. 109-117.
7. Koch C. Early infection and progression of Cystic Fibrosis Lung Disease // Pediatric Pulmonology. – 2002. – Vol. 34, № 3. – P. 232-236.

Сергиенко Диана Фикретовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава», Россия, 41400, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 38-50-66, e-mail: agma@astranet.ru

Башкина Ольга Александровна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»

Белопасова Наталья Аркадьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»

Касимова Нина Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая клинико-иммунологической лабораторией Научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»

Шашина Мария Сергеевна, аспирант кафедры факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Росздрава»