



УДК 616.15 - 073.537.9 : 616.24 - 002 - 06] - 053.2"465.06/11,12/17"

О.Е. Гусева, О.А. Лебедько, В.К. Козлов

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ ДЕФЕКТОВ ОРГАНОГЕНЕЗА РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

НИИ охраны материнства и детства СО РАМН, 680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, г. Хабаровск

Измерение интенсивности хемилюминесценции цельной крови является в настоящее время наиболее эффективным способом оценки биогеनेза активных форм кислорода — АФК, генерируемых клетками лейкоцитарного пула (главным образом нейтрофильными гранулоцитами) [2, 4].

В 1999 г. А.Х. Коган и соавт. открыли органоспецифическое явление значимого нарастания способности лейкоцитов — при прохождении этих клеток крови через сосудистое русло легких трансформировать молекулярный кислород в различные виды биоцидных свободных радикалов, в том числе в супероксиданион- и гидроксил-радикалы [1]. В то же время известно, что нарушения биогеनेза лейкоцитарных АФК играют ключевую роль в развитии воспалительных и констриктивных реакций в системе органов дыхания [7, 12]. Однако, несмотря на многочисленные клинико-экспериментальные исследования эффекторных свойств лейкоцитов [3, 5, 10, 13, 14], вопрос о состоянии и возрастных особенностях лейкоцитарного кислород-зависимого метаболизма при воспалительных заболеваниях легких на фоне пороков развития у детей остается открытым, что негативно отражается на разработке рациональных методов фармакологической коррекции реактивности лейкоцитов в условиях данной патологии.

Целью настоящей работы явилось изучение возрастных особенностей хемилюминесценции цельной крови у детей в периоды обострения и ремиссии хронических воспалительных заболеваний легких (ХВЗЛ) на фоне дефектов органогенеза респираторной системы

Материалы и методы

На базе клиники НИИ Омид было проведено исследование, в которое были включены 87 пациентов с ХВЗЛ в

периоды обострения по бронхитическому типу и клинико-лабораторной ремиссии на фоне пороков развития легких. При оценке клинической картины, а также параметров хемилюминесценции цельной крови были сформированы две возрастные группы обследуемых: 6-11 лет — 40 пациентов, 12-17 лет — 47 пациентов. Контрольную группу составили дети I, II группы здоровья: 6-11 лет — 20 детей, 12-17 лет — 20 детей. Диагноз ХВЗЛ установлен на основании комплексного клинического обследования по дифференциально-диагностическому алгоритму, включая трансторакальную биопсию с морфологическим исследованием биоптатов легких. В 100% подтвержден порок развития легких (гипо- и дисплазия легких).

Для оценки биогеनेза активных форм кислорода (АФК) цельной крови использовали метод хемилюминесценции (ХМЛ) [4]. Регистрацию ХМЛ осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Стандартизацию сигнала и математическую обработку кривых выполняли с помощью встроенной программы «Finlab». Регистрировали светосуммы люцигенин (luc)- и люминол (lum)-зависимого свечения: базальную — S-luc и S-lum и стимулированную опсонизированным зимозаном — S-(luc+z) и S-(lum+z). Интенсивность ХМЛ, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на число лейкоцитов и выражали в относительных единицах. Кроме того, определяли коэффициент стимуляции свечения (К) — отношение уровней S-(luc+z)/S-luc и S-(lum+z)/S-lum. Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В период обострения ХВЗЛ по бронхитическому типу у пациентов младшей возрастной группы (таблица)

базальная люцигенин-зависимая ХМЛ (Sluc) превышала контрольные значения в 5,4 раза, стимулированная опсонизированным зимозаном ХМЛ (Sluc+Z), превышала показатели в группе контроля в 3,1 раза. Соответственно коэффициент стимуляции свечения (K-luc) снизился в сравнении с контрольным уровнем в 1,7 раза.

При исследовании показателей люминол-зависимой ХМЛ (Slum) выявлен аналогичный характер изменений. Так, базальная ХМЛ (Slum) превышала контрольные значения в 4,9 раза, индуцированная (Slum+Z) — в 2,8 раза. Индекс стимуляции (Klum) при этом был ниже контрольных цифр в 1,8 раза. В периоде ремиссии все исследуемые ХМЛ-показатели у детей младшей возрастной группы приблизились к контрольному уровню, достоверно изменившись в сравнении с аналогичными при обострении ХВЗЛ, но, тем не менее, сохраняя статистически значимые отличия от контрольных (таблица). Так, в сравнении с контролем в периоде ремиссии показатели Sluc, Sluc+Z, Slum, Slum+Z были увеличены в 2,6; 2,1; 2,6 и 2,3 раза, соответственно. При этом значения коэффициента стимуляции люминол-зависимой ХМЛ были ниже контрольных в 1,2 раза, люцигенин-зависимой также в 1,2 раза.

При исследовании ХМЛ-показателей у пациентов старшей возрастной группы в период обострения хронического воспалительного процесса выявлены нарушения той же направленности и выраженности, что и у пациентов младшего возраста. Так, уровень базальной люцигенин-зависимой ХМЛ (Sluc) превышал контрольные значения в 5,3 раза, стимулированной (Sluc+Z) — в 2,7 раза, тогда как коэффициент стимуляции был, наоборот, снижен в 1,9 раза. Базальная люминол-зависимая ХМЛ (Slum) в группе «ХВЗЛ-обострение» у пациентов старшего возраста превышала контрольные значения в 4,8 раза, при стимуляции интенсивность люминол-зависимой ХМЛ у этой группы пациентов была выше контрольных показателей в 2,3 раза, однако коэффициент стимуляции (K-lum) был ниже контрольных значений в 1,6 раза.

В ремиссии ХВЗЛ у детей старшей возрастной группы наблюдалось достоверное улучшение хемилуминесцентных свойств цельной крови, но статистически значимые отличия от контроля сохранялись, хотя и в меньшей степени выраженности: величины Sluc, Sluc+Z, Slum, Slum+Z превышали контрольные значения в 2,7; 1,5; 2,2; 1,5 раза соответственно. При этом коэффициенты стимуляции K-luc и K-lum были снижены относительно контроля в 1,5 и 1,6 раза соответственно.

Люцигенин является высокоселективным маркером супероксиданион-радикала, а люминол относительно селективным маркером гидроксил-радикала [4]. Анализ параметров люцигенин-зависимой ХМЛ цельной крови отражает процессинг супероксиданион-радикала, являющегося пусковым агентом каскада реакций «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов. Изучение динамики люминол-зависимой ХМЛ дает представление о генерации гидроксил-радикала, являющегося наиболее агрессивной АФК «респираторного взрыва», вследствие чего обладающего, помимо бактерицидного, цитотоксическим, мутагенным и канцерогенным действием [3].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при ХВЗЛ на фоне пороков развития легких имеет место особо неблагоприятное соотношение интенсивности

Изучали люминол- и люцигенин-зависимую, базальную и индуцированную опсонизированным зимозаном хемилуминесценцию цельной крови у детей двух возрастных групп (6-11 и 12-17 лет) с хроническими воспалительными заболеваниями легких на фоне дефектов органогенеза респираторной системы. По сравнению с группой контроля, в период обострения у пациентов обеих возрастных групп уровни хемилуминесценции были повышены в 2,3-5,4 раза. В период ремиссии показатели хемилуминесценции достоверно снизились в обеих возрастных группах, но оставались повышенными по сравнению с контрольными значениями в 1,5-2,7 раза. При этом в старшей возрастной группе изменения хемилуминесценции были более выраженными.

Ключевые слова: хемилуминесценция крови, дети, легкие, возрастные особенности.

O.E. Guseva, O.A. Lebedko, V.K. Kozlov

AGE FEATURES OF CHEMO LUMINESCENCE OF WHOLE BLOOD IN CHILDREN WITH CHRONIC INFLAMMATORY BRONCHOPULMONARY DISEASES AND LUNG DEFECTS

Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk

Summary

The authors studied luminol- and lucigenin-enhanced, non-stimulated and stimulated with opsonized zymosan chemiluminescence's levels of whole blood in children of 6-11 years and 12-17 years with chronic inflammatory bronchopulmonary diseases and lung defects. In comparison with the control group in patients with exacerbation chemiluminescence's levels have been raised 2,3-5,4 times. In remission chemiluminescence's indicators have authentically decreased in both age groups, but remained 1,5-2,7 times elevated in comparison with control value. Thus in the senior age group change of chemiluminescence was more expressed.

Key words: chemiluminescence of blood, children, lung, age features.

двух процессов — высокий уровень базальной генерации АФК гранулоцитами и неадекватно низкий уровень АФК-ответа стимулированных гранулоцитов, что отражается на существенном снижении коэффициентов стимуляции свечения. Подобная динамика хемилуминесценции цельной крови указывает на неэффективность участия лейкоцитарных клеток в механизмах воспаления при данной патологии. Таким образом, снижение функциональных возможностей гранулоцитарной системы при ХВЗЛ на фоне пороков развития легких, сохраняющееся и в периоде клинической ремиссии заболевания, является важным механизмом хронизации и персистенции воспалительного процесса.

Нами было отмечено, что уровни стимулированной ХМЛ цельной крови детей старшего возраста из группы контроля превышают аналогичные показатели у детей младшей возрастной подгруппы, однако индексы стимуляции статистически значимых возрастных различий не

Показатели хемилюминесценции (отн. ед.) цельной крови пациентов младшей (6-11 лет) и старшей (12-17 лет) возрастных групп в различные периоды заболевания (M±m)

Показатель	Контроль	ХВЗЛ-обострение	ХВЗЛ-ремиссия	
Sluc	6-11 лет	0,18±0,01	0,98±0,05*	0,48±0,03***
	12-17 лет	0,21±0,02	1,11±0,07*	0,58±0,02***
Sluc+Z	6-11 лет	1,62±0,07	4,98±0,24*	3,55±0,14***
	12-17 лет	2,02±0,10**	5,45±0,23*	3,06±0,11***
K-luc	6-11 лет	8,81±0,31	5,08±0,28*	7,43±0,32***
	12-17 лет	9,42±0,39	4,91±0,22*	6,05±0,28***
Slum	6-11 лет	0,24±0,01	1,19±0,11*	0,64±0,03***
	12-17 лет	0,26±0,01	1,25±0,09*	0,59±0,03***
Slum+Z	6-11 лет	2,17±0,12	6,13±0,21*	4,98±0,19***
	12-17 лет	2,67±0,11**	6,25±0,22*	4,18±0,15***
K-lum	6-11 лет	9,25±0,31	5,17±0,21*	7,85±0,21***
	12-17 лет	10,18±0,47	5,00±0,24*	7,03±0,19***

Примечания. * — $p < 0,05$ по отношению к группе контроля; ** — $p < 0,05$ при сравнении между возрастными подгруппами; *** — $p < 0,05$ по отношению к группе ХВЗЛ-обострение.

имели. При анализе возрастных особенностей хемилюминесценции цельной крови пациентов с ХВЗЛ установлено, что в периоде ремиссии у детей старшего возраста базальная генерация супероксиданион- и гидроксил-радикалов была выше, а стимулированная и соответственно коэффициент стимуляции ниже, чем у пациентов младшей возрастной подгруппы. Подобная возрастная инволюция эффекторных свойств гранулоцитов также свидетельствует о патогенетической значимости выявленных отклонений в персистенции хронического воспаления у детей с ХВЗЛ на фоне пороков развития легких.

Известно, что АФК, продуцируемые гранулоцитами, при накоплении в токсических концентрациях индуцируют каскад патобиохимических изменений, результатом чего является прямое повреждение нуклеиновых кислот, белков липидов, дезинтеграция биологических мембран как самих лейкоцитов, так и окружающих клеток и тканей. Помимо прямого повреждающего действия гранулоцитарные АФК в качестве универсальных трансдукторов сигнала активируют факторы транскрипции и генную экспрессию провоспалительных медиаторов [6, 8, 9, 11]. На основе представлений о токсичности фагоцитарных АФК было сформировано понятие об «аутофагоцитарных заболеваниях», к числу которых отнесены бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких [1]. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии аутофагоцитарной составляющей и в патогенезе ХВЗЛ у детей с пороками развития легких.

Таким образом, верификация некоторых особенностей (в том числе возрастных) участия гранулоцитарных АФК в молекулярно-клеточных механизмах патогенеза ХВЗЛ у детей на фоне пороков развития легких позволит применить селективную коррекцию выявленных нарушений и повысить эффективность терапевтических и реабилитационных мероприятий.

Выводы

1. У пациентов с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы в периоде обострения по

бронхитическому типу отмечается повышение интенсивности как базальной, так и стимулированной опсонизированным зимозаном люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции цельной крови в обеих возрастных группах.

2. В периоде клинико-лабораторной ремиссии у пациентов с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы интенсивность как базальной, так и стимулированной хемилюминесценции снижается, но продолжает превышать контрольные значения обеих возрастных групп.

3. У пациентов старшей возрастной группы с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза бронхолегочной системы в периоде ремиссии наблюдаются более выраженные нарушения исследуемых параметров хемилюминесценции цельной крови.

Л и т е р а т у р а

1. Коган А.Х. Роль легких в регуляции генерации активных форм кислорода фагоцитами, содержания иммуноглобулинов и активности комплемента // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1999. - №3. - С. 9-14.

2. Alexandrova M.L., Bochev P.G. Reduced extracellular phagocyte oxidative activity, antioxidant level changes and increased oxidative damage in healthy human blood as a function of age // Age (Dordr). - 2009. - Vol. 31, Issue 2. - P. 99-107.

3. Azad N., Rojanasakul Y., Vallyathan V. Inflammation and lung cancer: roles of reactive oxygen/nitrogen species // J Toxicol. Environ. Health Crit. Rev. - 2008. - Vol. 11, №1. - P. 1-15.

4. Dahlgren C., Karlsson A., Bylund J. Measurement of respiratory burst products generated by professional phagocytes // Methods Mol Biol. - 2007. - Vol. 412. - P. 349-63.

5. Fialkow L., Wang Y., Downey G.P. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function // Free Radic. Biol. Med. - 2007. - Vol. 42, №2. - P. 153-164.

6. Gao F., Kinnula V.L., Myllirniemi M. Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis // Antioxid. Redox. Signal. - 2008. - Vol. 10, №2. - P. 343-354.

7. Ichinose M. Differences of inflammatory mechanisms in asthma and COPD // Allergol Int. - 2009. - Vol. 58, Issue 3. - P. 307-313.

8. Jacquot J., Tabary O., Le Rouzic P. Airway epithelial cell inflammatory signalling in cystic fibrosis // Int. J Biochem. Cell Biol. - 2008. - Vol. 40, №9. - P. 1703-1715.

9. Reddy S.P. The antioxidant response element and oxidative stress modifiers in airway diseases // Curr. Mol. Med. - 2008. - Vol. 8, №5. - P. 376-383.

10. Roberts R.A., Laskin D.L., Smith C.V. et al. Nitrate and Oxidative Stress in Toxicology and Disease // Toxicol Sci. - 2009. - Vol. 5. - P. 26-35.

11. Tasaka S., Amaya F., Hashimoto S. et al. Roles of oxidants and redox signaling in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome // Antioxid. Redox Signal. - 2008. - Vol. 10, №4. - P. 739-753.

12. Tetley T.D. Inflammatory cells and chronic obstructive pulmonary disease // Curr Drug Targets Inflamm Allergy. - 2005. - Vol. 6. - P. 607-618.

13. van der Vliet A. NADPH oxidases in lung biology and pathology: host defense enzymes, and more // Free Radic. Biol. Med. - 2008. - Vol. 44, №6. - P. 938- 955.

14. Yao H., Yang S.R., Kode A. et al. Redox regulation of lung inflammation: role of NADPH oxidase and NF-kappaB signaling // Biochem, Soc, Trans. - 2007. - Vol. 35, Pt. 5. - P. 1151-1155.

Координаты для связи с авторами: Гусева Ольга Евгеньевна — научный сотрудник Института охраны материнства и детства Хабаровского филиала ДНЦ физиологии

и патологии дыхания СО РАМН, e-mail: o.guseva@bk.ru; Лебедево Ольга Антоновна — доктор мед. наук, ведущий научный сотрудник, заведующая клинико-диагностической лабораторией НИИ охраны материнства и детства Хабаровского филиала ДНЦ физиологии и патологии дыхания СО РАМН, тел.: 8-(4212)-35-65-91), e-mail: iomid@yandex.ru; Козлов Владимир Кириллович — доктор мед. наук, профессор, засл. деятель науки, чл.-кор. РАМН, директор НИИ охраны материнства и детства Хабаровского филиала ДНЦ физиологии и патологии дыхания СО РАМН, e-mail: iomid @ yandex.ru



УДК 612.015.16 : 618.63] : [618.4 + 618.51]

О.А. Сенькевич, З.В. Сиротина, З.А. Комарова

БИОЭЛЕМЕНТНАЯ ЦЕННОСТЬ ЖЕНСКОГО ГРУДНОГО МОЛОКА ПРИ НОРМАЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ И НЕВЫНАШИВАНИИ

Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Пищевая ценность и свойства грудного молока изучены довольно хорошо, т.к. на протяжении многих лет грудное молоко оставалось практически единственным продуктом питания, подходящим для вскармливания новорожденных. Однако остается недостаточно изученным очень важный аспект этой проблемы — состояние лактации у женщин с преждевременными родами [1, 10], тогда как от времени наступления родов зависит качественный и количественный состав грудного молока. По мнению ряда исследователей [2, 5, 8, 9, 12], происходит изменение состава молока в процессе гестации, характер лактационной функции неразрывно связан с особенностями течения беременности. Это обстоятельство является доказательством уникально гибкого соответствия материнского молока индивидуальным потребностям недоношенного ребенка, способствует приспособлению новорожденного к условиям внеутробного существования, к воздействию факторов внешней среды. Однако на сегодняшний день не подлежит сомнению тот факт, что грудное молоко, как основной источник питания, не является вполне адекватным продуктом для вскармливания глубоко недоношенных новорожденных, т.к. не может обеспечить физическое развитие, соответствующее внутриутробному, являющимся «золотым стандартом», обеспечивая только «догоняющий» (catch upgrowth) темп роста [4-6, 7].

Грудное молоко является особым объектом изучения, т.к. позволяет изучить элементную обеспеченность ребенка при естественном вскармливании, может установить маршрут и дозы поступления токсикантов для грудных детей роста [11].

Целью исследования является определение биоэлементной ценности женского грудного молока при нормальном течении беременности и невынашивании.

Резюме

Грудное молоко является особым объектом исследования, т.к. позволяет изучить элементную обеспеченность ребенка при естественном вскармливании. Среднее содержание большинства изученных элементов в молоке преждевременно родивших женщин достоверно ниже, чем в норме, что подтверждает положение об особенностях лактации преждевременно родивших женщин и высоком риске развития алиментарно-зависимых состояний у недоношенных детей.

Ключевые слова: микроэлементы, грудное молоко, преждевременные роды, пищевая ценность грудного молока, нормальные срочные роды.

O.A. Senkevich, Z.V. Sirotnina, Z.A. Komarova

BIOELEMENT VALUE OF FEMALE BREAST MILK IN WOMEN WITH NORMAL COURSE OF PREGNANCY AND PRE TERM DELIVERY

Far East state medical university, Khabarovsk

Summary

Breast milk is a special object of studying since it helps to study element supply for child with breast feeding. The average content of the majority of the studied elements in milk of prematurely given birth women is reliably lower, than normal confirming peculiarities of lactation of prematurely given birth women and high risk of development of alimentary-dependent conditions in premature children.

Key words: microcells, breast milk, premature birth, food value of breast milk, normal precipitated delivery.