

Л.М. Панасенко, Е.И. Краснова, А.В. Ефремов

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ОТВЕТА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПРИ КОКЛЮШЕ

ФГУ ВПО Новосибирская государственная медицинская академия

У 149 детей, больных коклюшем, в динамике болезни определяли функциональное состояние полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови с использованием метода хемилюминесценции (ХЛ). Оценивали значения спонтанной люциногенинзависимой ХЛ, а также стимулированной латексом. Установлены особенности ХЛ-ответа лейкоцитов цельной крови при различных вариантах течения коклюша. Определение функционального состояния фагоцитов с помощью метода ХЛ представляет прогностическую значимость для определения групп риска неблагоприятного течения на ранних этапах развития инфекционного процесса. Для тяжелых и осложненных форм коклюша еще до появления осложнений, на 1-й неделе периода спазматического кашля были характерны наиболее высокие показатели спонтанной и индуцированной латексом ХЛ и низкий индекс стимуляции.

**Ключевые слова:** коклюш, хемилюминесценция, бактериальные осложнения

Примерно у 2/3 больных коклюшем (К) наблюдается относительно благоприятное течение, у других заболевание протекает с развитием осложнений, чаще пневмоний. До сих пор неясны многие аспекты его патогенеза, в частности, роль полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЛ) в развитии воспалительного процесса в нижних дыхательных путях. Известно, что ПМЛ, и особенно нейтрофильные гранулоциты (НФ), определяют адекватность функционирования всех остальных клеток и систем организма. Это обусловлено их высоким эффекторным потенциалом и практически моментальной ответной реакцией на изменения гомеостаза. ПМЛ быстро изменяют свой метаболизм в ответ на любое стимулирующее воздействие вплоть до развития «респираторного взрыва» и секреторной дегрануляции, при которой высвобождаются ферменты, обладающие бактерицидной активностью и способностью генерировать токсические радикалы кислорода. Степень бактерицидности и цитотоксичность в организме во многом определяются этими клетками.

Макрофаги осуществляют в организме истинный фагоцитоз, и хотя процесс фагоцитоза нейтрофилами протекает интенсивно, но задача у них другая. Основная функция ПМЛ — это инициация воспалительной реакции. В клинических исследованиях нашло широкое применение изучение биохемилюминесценции цельной крови в качестве показателя, характеризующего активность образования активных форм кислорода

(АФК) нейтрофилами [5, 8]. Основным индуктор хемилюминесценции (ХЛ) — нейтрофилы крови. Моноциты ведут себя в этом плане слабее, а лимфоциты еще слабее, поэтому практически вкладом этих клеток в суммарную ХЛ цельной крови можно пренебречь.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение особенностей продукции АФК лейкоцитами цельной крови методом люцигенинзависимой ХЛ у 149 больных К в возрасте от 1 мес. до 14 лет в динамике болезни и в зависимости от течения инфекционного процесса.

### Методика

Исследование активированной и спонтанной ХЛ нейтрофилов (сХЛ и иХЛ) проводили на базе Новосибирского НИИ туберкулеза [9]. Исследование проведено в соответствии с этическими нормами и Правилами клинической практики РФ (2003). При обследовании детей, больных коклюшем, было получено информированное согласие родителей. Дети до года (80 человек) составили I группу, возраст 1-7 мес. У 58 детей (72,5%) имело место благоприятное течение и у 22 — осложненное пневмонией. Во II группе наблюдали 69 детей 5-14 лет (средний возраст  $9,7 \pm 2,8$  лет), из них 53 ребенка (77%) с неосложненным течением и 16 — с осложненным. Все дети поступили в стационар на 1-2-й неделе периода спазматического кашля, что в среднем составило  $8,4 \pm 1,3$  дня. Забор венозной крови производился утром натощак по общепринятым правилам. Теоретические основы

для модифицирования определения сХЛ и иХЛ НФ были взяты из литературных источников [1, 2, 3, 4, 6, 7, 10]. Регистрацию производили на микропланшетном хемилюминометре Fluoroscanner Ascent FL (Labsystems, Финляндия), одновременно измеряя спонтанную и индуцированную ХЛ с помощью компьютерной программы Fluoroscanner Ascent 2.4.1. в течение 30 минут. В качестве индуктора дыхательного «взрыва» использовали латекс для фагоцитоза (опсонизированный латекс «Sigma» США). Полученные результаты сравнивали с группой, состоящей из 43 здоровых детей.

### Результаты

У больных К в начале периода спазматического кашля (ПСК) во всех возрастных группах средние значения как сХЛ, так и иХЛ достоверно отличались от показателей у здоровых детей (Таблица 1), показатели иХЛ возросли в 1,7 раза по сравнению с сХЛ. Отчетливо видно, что ПМЛ отвечают на стимуляцию латексом в большей степени, чем в контрольной группе.

Таким образом, при К происходило повышение функциональной активности ПМЛ, направленной на усиление продукции АФК и продуктов перекисного окисления липидов. Возрастные различия существенно не влияли на показатели ХЛ.

В тех случаях, когда К осложнялся пневмонией или бронхитом, связанными с присоединени-

ем вторичной бактериальной инфекции (Таблица 2), еще до развития осложнений показатели сХЛ и иХЛ значительно возрастали по сравнению с таковыми при неосложненном течении болезни ( $p < 0,05$ ). Впоследствии, чаще на 2-3-й неделях ПСК, у 21 ребенка в возрасте до 1 года развилась пневмония и у одного — бронхит; у больных старшей возрастной группы в 14 случаях течение К осложнилось пневмонией и у двух пациентов — гнойным бронхитом.

В таблице 3 наглядно представлено, что при неосложненном течении К показатели ХЛ были наиболее высокими в начале ПСК и достоверно снижались перед выпиской детей из стационара, приближаясь к значениям у здоровых лиц (на 4-5-й неделях ПСК). Обращал на себя внимание низкий индекс стимуляции (ИС) (соотношение иХЛ и сХЛ ответа) у детей первого года жизни в начале заболевания (1-2-я неделя ПСК) по сравнению со здоровыми детьми, что отражало низкие резервные возможности ПМЛ именно в этой возрастной группе.

При осложненном течении К у всех пациентов к концу ПСК значения сХЛ не возвращались к нормативным, они длительно оставались повышенными, что может иметь важное значение для прогноза возможного неблагоприятного исхода болезни.

Таблица 1

### Показатели хемилюминесцентного анализа при коклюше в сравнении с контрольной группой

Исследуемые группы	Спонтанная хемилюминесценция (л.е.)	Латекс-индуцированная хемилюминесценция (л.е.)	Индекс стимуляции (усл. ед.)
Больные коклюшем до 1 года (n=58)	1,21±0,2*	2,07±0,15*	1,71±0,07*
Контрольная группа до 1 года (n=20)	0,66±0,04	1,36±0,09	2,06±0,1
Больные коклюшем 5-14 лет (n=53)	1,18±0,2*	2,0±0,3*	1,6±0,11*
Контрольная группа 5-14 лет (n=23)	0,63±0,05	1,20±0,08	1,90±0,1

Примечание: \* — звездочкой обозначены величины, достоверно отличающиеся от контроля; л.е. — люминесцентная единица — количество импульсов в определенное время (120 мс).

Таблица 2

### Показатели хемилюминесцентного анализа при различных вариантах течения коклюша

Клинические формы заболевания	Спонтанная хемилюминесценция (л.е.)	Латекс-индуцированная хемилюминесценция (л.е.)	Индекс стимуляции (усл. ед.)
Неосложненная			
I (n=58)	1,21±0,2	2,07±0,15	1,71±0,07
II (n=53)	1,18±0,2	2,0±0,3	1,67±0,11
Осложненная			
I (n=22)	1,7±0,14*	2,59±0,2*	1,4±0,04*
II (n=16)	1,8±0,16*	2,7±0,19*	1,5±0,08*

Примечание: \* — звездочкой обозначены величины, достоверно отличающиеся при осложненном и неосложненном течении в соответствующих группах.

ИС у детей до года был ниже по сравнению со значениями при неосложненном течении инфекции и здоровыми детьми. Ту же тенденцию наблюдали и у детей 5-14 лет, однако ИС у них к периоду выздоровления не отличался от референтных значений.

Выявлена корреляция между уровнем иХЛ и степенью тяжести К и развитием осложнений: наиболее высокий уровень стимулированного латексом ХЛ-ответа отмечен у больных с осложненным течением ( $r=0,57$   $p<0,05$ ).

Перед выпиской из клиники нормализация показателей ХЛ произошла у всех детей (100%) с неосложненным течением инфекции. При неблагоприятном течении повышение сХЛ сохранялось у 14 (87,5%) пациентов I группы и у 9 (90%) II группы, латекс — иХЛ — у 12 (75%) детей I группы и у 8 (80%) II группы.

### Заключение

ХЛ-ответ отражает способность клеток производить медиаторы воспаления — АФК, а также окисленные метаболиты арахидоновой кислоты — простагландины и лейкотриены. Выявленный в процессе обследования детей, больных К, повышенный уровень реагирования ПМЛ объясняется образованием данных медиаторов в остром периоде заболевания. Полученные данные согласуются с результатами исследователей, описавших морфологическую картину в трахее, бронхах и легочной ткани при К у детей, умер-

ших в результате гипоксии мозга. Особенностью коклюшной моноинфекции является отсутствие выраженного продуктивного воспаления со скоплением ПМЛ в цилиндрическом дыхательном эпителии, больше развит сосудистый компонент. Инфильтративные изменения возникают в случаях осложненных форм К в виде присоединения вторичной инфекции (гнойный бронхит, пневмония). Именно в таких ситуациях в наших исследованиях наблюдали выраженный ХЛ-ответ ПМЛ цельной крови, причем он на несколько дней предшествовал появлению вышеуказанных осложнений. Необходимо также указать, что осложненное течение, как правило, являлось следствием тяжелого варианта заболевания, а для тяжелых форм еще до появления осложнений, на 1-й неделе ПСК, также были характерны высокие показатели сХЛ и иХЛ.

Из полученных данных можно сделать заключение, что коклюшный токсин в той дозе, в которой он продуцируется бордетеллами при инфекционном процессе, вызывает повышение функциональной активности «блуждающих» фагоцитов, степень которой определяет выраженность сосудистых реакций в очаге поражения. При значительном повреждении стенок сосудов, вызванном как самим токсином, так и свободно-радикальным окислением, регистрируемым с помощью метода ХЛ, возможна активация эндогенной микробной флоры, что приводит к развитию

Таблица 3

Показатели хемилюминесцентного анализа в динамике коклюша

Исследуемые группы	Спонтанная хемилюминесценция (л.е.)	Латексиндуцированная хемилюминесценция (л.е.)	Индекс стимуляции (усл. ед.)
I группа:			
— Неосложненное течение			
1-2 неделя ПСК (n=58)	1,21±0,2	2,07±0,15	1,71±0,07***
4-5 неделя ПСК (n=53)	0,72±0,05*	1,3±0,14*	1,8±0,12
— Осложненное течение:			
1-2 неделя ПСК (n=22)	1,7±0,14	2,59±0,2	1,4±0,04***
4-5 неделя ПСК (n=19)	0,9±0,01**,**	1,54±0,04**	1,7±0,12**,**
Контрольная группа (n=20)	0,66±0,04	1,36±0,09	2,06±0,1
II группа:			
— Неосложненное течение			
1-2 неделя ПСК (n=53)	1,18±0,2	2,0±0,3	1,7±0,11
4-5 неделя ПСК (n=50)	0,75±0,06*	1,4±0,07*	1,9±0,13
— Осложненное течение:			
1-2 неделя ПСК (n=16)	1,8±0,16	2,7±0,19	1,5±0,08***
4-5 неделя ПСК (n=12)	0,9±0,03**,**	1,5±0,1**,**	1,7±0,13**
Контрольная группа (n=23)	0,63±0,05	1,20±0,08	1,90±0,1

Примечание: \* — звездочкой обозначены величины, достоверно отличающиеся при неосложненном течении в динамике болезни; \*\* — двумя звездочками обозначены величины, достоверно отличающиеся при осложненном течении в динамике болезни; \*\*\* — тремя звездочками обозначены величины, достоверно отличающиеся от контроля, ПСК — период спазматического кашля.

осложнений воспалительного генеза. ХЛ-анализ можно использовать в качестве прогностического теста развития тяжелых и осложненных форм болезни.

Полученные результаты позволяют сформулировать следующие **выводы**:

— развитие К сопровождалось повышением функциональной активности ПМЛ, что проявлялось усилением их окислительного метаболизма и, как следствие этого, увеличением ХЛ по сравнению со здоровыми детьми;

— определение люцигенинзависимой ХЛ лейкоцитов цельной крови может иметь существенное значение в диагностике тяжелых форм и осложненного течения К, что особенно важно при выборе адекватной терапии на ранних этапах болезни;

— низкий ИС у детей первого года жизни в начале заболевания по сравнению со здоровыми детьми отражает низкие резервные возможности ПМЛ и частое развитие бактериальных осложнений именно в этой возрастной группе;

— динамика ХЛ-ответа в процессе болезни имеет самостоятельное значение для контроля за эффективностью проводимой терапии.

#### **Chemoluminescence of solid blood leukocytes in children suffering from whooping cough and its clinical significance**

L.M. Panasenکو, E.I. Krasnova, A.V. Efremov

In 149 children suffering from whooping cough one determined the functional state of polymorphonuclear leukocytes of the peripheral blood using the method of chemoluminescence (CL). The significance of spontaneous CL was estimated and stimulated with latex too. One also determined CL-reaction peculiarities of solid blood leukocytes in

different variants of whooping cough course. Determination of the functional state of phagocytes using CL method is of prognostic significance for defining of risk group, which has unfavorable course at early stages of infectious process development. The highest indicates of spontaneous and induced with latex CL and low index of stimulation were typical for severe and complicated forms of whooping cough before complication of spasmodic cough during the first week.

#### **Литература**

1. Афонина Г.Б., Майданник В.Г. // Врачебное дело. — 1990. — № 9. — С. 73-78.
2. Бакуев М.М., Саидов М.З., Бутаков А.А. // Иммунология. — 1991. — № 1. — С. 15-17.
3. Бакуев М.М., Саидов М.З., Зурхаев Р.З. // Иммунология. — 1993. — № 1. — С. 54-56.
4. Гриневич Ю.А., Барабой В.А., Орел В.Э. // ЖМЭИ. — 1986. — № 1. — С. 91-97.
5. Коньшклина Т.М. // Моделирование и клиническая характеристика фагоцитарных реакций: Сб.науч. тр. Горьковского мед. института. — Горький, 1989. — С. 109-115.
6. Ляшенко В.А. // Иммунология. — 1995. — № 4. — С. 48-52.
7. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. — Новосибирск, 1989. — 344 с.
8. Москаленко Е.П., Тюкавкина С.Ю. // Журн. микробиол. — 1999. — № 6. — С. 54-56.
9. Применение хемилюминесцентного анализа для оценки функциональной активности лейкоцитов крови у детей с иммунопатологическими состояниями: методические рекомендации для врачей / Савченко А.А., Куртасова Л.М., Шакина Н.А. и др. — Красноярск, 1998. — 18 с.
10. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1995. — № 3. — С. 3-10.