

УДК: 616.831.9-008.8-07-053.2

МИКРОБИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ И ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ЭНТЕРОВИРУСНЫМ МЕНИНГИТОМ

В.П. Молочный, И.И. Протасеня, О.Н. Солодовникова

ГБОУ ВПО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России, Хабаровск

В статье представлены результаты исследования микробицидной активности нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) в крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) детей, больных серозными менингитами энтеровирусной этиологии. Выявлены особенности изменения активности миелопероксидазы (МПО), цитохромоксидазы (ЦХО) и кислой фосфатазы (КФС) в крови и ЦСЖ у больных с серозными менингитами в острый период болезни по сравнению с показателями изучаемых ферментов у больных данной группы в периоде реконвалесценции и здоровых детей.

Ключевые слова: дети, энтеровирусная инфекция, менингит, нейтрофильные лейкоциты.

MICROBICIDAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN BLOOD AND CEREBROSPINAL FLUID, TAKEN FROM CHILDREN WITH ENTEROVIRUS MENINGITIS

V.P. Molochniy, I.I. Protasenia, O.N. Solodovnikova

The Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

The results of investigation of neutrophilic microbicidal activity in blood and cerebrospinal fluid taken from children with enterovirus meningitis are presented in this article. Biochemical alterations of myeloperoxidase activity, cytochrome oxidase, acid phosphatase in blood and cerebrospinal fluid of patients with acute meningitis were compared with patients in recovery phase and control group.

Key words: children, enterovirus infection, meningitis, neutrophils

Энтеровирусная инфекция относится к широко распространенным заболеваниям, регистрирующимся на территории Хабаровского края, а серозный менингит, как одна из ее клинических форм, является наиболее значимой клинической проблемой [2, 3, 5, 14].

Микробицидная активность нейтрофильных лейкоцитов изучалась при различных патологических состояниях, в том числе при пневмониях, системной красной волчанке, atopических дерматитах, бронхиальной астме [1, 4, 8]. Однако большинство авторов изучали активность интралейкоцитарной микробицидной системы (ИМС) НЛ только на системном уровне – в крови [6, 7, 15].

Целью исследования явилось определение изменения активности МПО, ЦХО и КФС НЛ в крови и ЦСЖ детей, больных серозными в острый период и период реконвалесценции.

Материалы и методы исследования

Все лабораторные и клинические исследования были проведены нами у 45 больных СВМ в острый период болезни и 35 детей в периоде реконвалесценции. Заболевание у всех детей начиналось остро. Основными проявлениями болезни были: лихорадка, головная боль, рвота, которые отмечались у всех детей с установленным диагнозом серозного менингита.

Всем детям в соответствии со стандартом обследования был проведен общеклинический минимум анализов унифицированными методами на базе КГБУЗ «ДККБ» им. А.К. Пиотровича г. Хабаровска. Больным проводилось вирусологическое исследование фекалий и ЦСЖ на энтеровирусы ПЦР-методом на базе вирусологической лаборатории ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае». Вирусологическое подтверждение диагноза получено у всех наблюдаемых нами больных.

Согласно литературным данным [11, 17], интралейкоцитарная микробицидная система (ИМС) НЛ обеспечивается с помощью определенных последовательных реакций, включающих систему НАДФ–производных оксидантов, миелопероксидазно-перекись водорода-хлоридную систему, нитроксидобразующую систему и систему белков нейтрофильных гранул. Основными звеньями в системе микробицидных свойств нейтрофилов и реализации кислородозависимого механизма разрушения

патогенных микроорганизмов, на наш взгляд, являются миелопероксидаза, как стимулятор образования реактивных метаболитов кислорода и активации процессов свободнорадикального окисления (формирование «респираторного взрыва»), цитохромоксидаза, отражающая косвенно образование в НЛ супероксидного аниона (O_2^-), который она инактивирует, превращая в воду, и кислая фосфатаза, обеспечивающая внутриклеточное переваривание, являясь, таким образом, показателем протеолитических процессов в НЛ [10, 12, 16].

Микробицидную активность ферментов нейтрофильных лейкоцитов мы оценивали с помощью методик, разработанных во Владивостокском НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (Л. М. Сомова, Н. Г. Плехова, 2005) на спектрофотометре Multiscan spectrum производства фирмы Thermo Electron Oy, Финляндия (2002).

Результаты и обсуждение

Изучение процессов ИМС в крови у детей было проведено нами в динамике с учетом периодов болезни: острый и в период реконвалесценции. В острый период болезни было обследовано 45 детей с СВМ. В период реконвалесценции было обследовано 35 детей с СВМ. Для сравнения (в качестве условной нормы), использованы показатели, полученные при исследовании крови у 30 относительно здоровых детей.

Средний возраст детей в группах обследованных пациентов составил соответственно $3,41 \pm 0,37$ года, $3,50 \pm 0,33$ и $3,48 \pm 0,50$ года ($P > 0,5$).

Результаты исследования микробицидной активности нейтрофилов (МПО, ЦХО и КФС) в лейкоцитарной взвеси представлены в табл.1.

Таблица 1.

Показатели микробицидной активности ферментов НЛ крови больных серозными менингитами в острый период и период реконвалесценции болезни

Показатели	I группа (острый период) n=45	II группа (период реконвалесценции) n=35	III группа Условно здоровые дети n=30
МПО	$1,26 \pm 0,09$ $P_1 < 0,001$	$0,19 \pm 0,01$ $P_1 < 0,001$	$0,34 \pm 0,02$ $P < 0,02$
ЦХО	$1,74 \pm 0,14$ $P_1 < 0,001$	$0,64 \pm 0,04$ $P_1 < 0,01$	$0,75 \pm 0,02$ $P < 0,01$
КФС	$0,41 \pm 0,03$ $P_1 < 0,001$	$0,13 \pm 0,01$ $P_1 > 0,1$	$0,15 \pm 0,007$ $P < 0,001$

Примечание: n – количество обследованных детей;

P – достоверность различий между показателями I группы и III группы,

P₁ – достоверность различий между показателями II группы и III группы,

P₂ – достоверность различий между показателями I группы и II группы.

Как видно из данных табл. 1, отмечалось повышение активности МПО нейтрофильных лейкоцитов в крови в острый период заболевания в группе детей, больных серозными менингитами, по сравнению с группой здоровых в 3,7 раза ($P < 0,001$). Активность ЦХО у детей с серозным менингитом в острый период была в 2,3 раза больше по сравнению с показателем, установленным в группе условно здоровых детей ($P < 0,001$). Показатель активности КФС нейтрофилов в крови у больных серозными менингитами в острый период превышал показатель условной нормы в 2,7 раза ($P < 0,001$).

В периоде реконвалесценции в крови детей с СВМ изучаемые показатели микробицидной системы (МПО, ЦХО и КФС) существенно уменьшились, приблизившись к нормальным величинам.

У детей, больных серозным менингитом, находившихся в периоде реконвалесценции, уровень активности МПО в НЛ крови стал ниже в 6,1 раза ($P_1 < 0,001$), ЦХО – в 2,4 раза ($P_1 < 0,001$) и КФС – в 3,07 раза ($P_1 < 0,001$) по сравнению с исходными значениями этих показателей, полученных в острый период болезни. Причем активность МПО и ЦХО стала достоверно меньше показателей, полученных у относительно здоровых детей ($P < 0,01$), активность КФС – не отличалась от нормы ($P > 0,1$).

Указанные различия в активности ферментов могут явиться одним из дополнительных критериев дифференциальной диагностики серозных менингитов в первые дни заболевания и в периоде реконвалесценции.

Изучение ИМС ЦСЖ проводилось в острый период заболевания у детей, больных СВМ и детей, у которых менингит был исключен (в сопоставлении). Забор материала (ЦСЖ) производился путем спинномозговой пункции в типичном месте по строгим клиническим показаниям в условиях асеп-

тики. Показатели микробицидной активности ферментов НЛ в ЦСЖ у детей с СВМ в острый период заболевания и период реконвалесценции представлены в табл. 2.

Таблица 2.

Показатели микробицидной активности нейтрофильных лейкоцитов ЦСЖ больных серозными менингитами в острый период болезни и период реконвалесценции

Показатели	I группа n=45	II группа n=35	III группа n=30
МПО	0,06±0,001 P ₁ <0,001	0,05±0,004 P ₁ <0,001	0,12±0,001 P<0,001
ЦХО	0,18±0,006 P ₁ <0,001	0,09±0,006 P ₁ <0,001	0,05±0,001 P<0,001
КФС	0,07±0,001 P ₁ <0,001	0,06±0,005 P ₁ >0,001	0,10±0,002 P<0,001

Примечание: n – количество обследованных детей;

P – достоверность различий между показателями I группы и III группы,

P₁ – достоверность различий между показателями II группы и III группы,

P₂ – достоверность различий между показателями I группы и II группы.

При анализе показателей, представленных в табл. 2, нами выявлено, что у больных СВМ наблюдалась несколько иная реакция НЛ ЦСЖ сравнению с уровнем активности этих же ферментов в нейтрофилах крови больных.

Показатель активности МПО в ЦСЖ, выявленный у детей, больных серозными менингитами был меньше нормальных величин (P<0,001). Это же касается и уровня активности КФС в нейтрофилах ЦСЖ больных с серозным менингитом, который оказался в 1,4 раза ниже по отношению к его значению, обнаруженного у детей из группы сравнения, что являлось статистически достоверным отличием (P<0,001). В то же время уровень активности ЦХО в нейтрофилах ЦСЖ у больных серозным менингитом превышал в 3,4 раза значение условной нормы.

В периоде реконвалесценции у больных с СВМ показатели активности изучаемых ферментов в периоде реконвалесценции значительно не отличались от уровня активности аналогичных показателей, полученных у больных детей в остром периоде, кроме значения активности ЦХО, который оставался выше условной нормы, хотя и снизился (P₁<0,001).

Выводы

При вирусном менингите происходит активация всех ферментных систем НЛ в крови, вероятно, через систему цитокинов [9], без выброса ферментов в фаголизосому и во внешнюю среду (в кровь и ЦСЖ). Можно предположить, что у больных СВМ снижено разрушение НЛ в сосудистом русле. У данных больных происходит сохранение повышенной активности ЦХО в ЦСЖ в острый период, что можно объяснить антиоксидантной направленностью данного фермента, препятствующего действию АФК в ЦСЖ и его цитотоксическим действием на фагоциты, а также увеличением количества генерированных самими нейтрофилами АФК, которые этот фермент нейтрализует.

Таким образом, высокие показатели активности ферментов в крови у больных серозными менингитами отражают индуцированную вирусами стимуляцию клеток в ответ на проникновение в кровь патогена [13] и повышение активности НЛ, в том числе и за счет влияния циркулирующих цитокинов в крови у больных СВМ.

Литература

1. Казначеева Л.Ф., Рычкова Н.А., Маянская Н.Н., Вохминцева Л.В. Активность лизосомальных ферментов в динамике атопического дерматита у детей // Атопический дерматит: международная конференция. - Екатеринбург, 2000. – С. 38-40.
2. Амвросьева, Т.В., Поклонская Н.В., Кишкурно Е.П. Инструкция по лабораторной диагностике энтеровирусных инфекций: Инструкция по применению. — Минск: ГУ РНМБ, 2005. — 28 с.
3. Бондарев, Л.С., Вяхирева И.В., Сошенко И.И. Эпидемическая вспышка Коксаки В инфекции // Сучасні інфекції. — 1999. — № 2. — С. 69-73.
4. Яшулов К.Б., Шевырева М.П., Лазикова Г.Ф. Вспышка энтеровирусной инфекции с серозным менингитом в Республике Калмыкия и меры по ее локализации и ликвидации // Здоровье населения и среда обитания. — 2003. — № 5. — С. 13-16.

5. Козлова Е.А. Клиническое значение состояния интралейкоцитарной микробицидной системы лейкоцитов периферической крови у детей, больных острым и хроническим пиелонефритом: Дис. ... канд мед наук. - Хабаровск: ДВГМУ, 2010. – 142 с.
6. Лукашов А.Н. Роль рекомбинации и эволюции энтеровирусов // Микробиология. — 2005. — № 4. — С. 83-89.
7. Нагоев, Б.С., Маржохова М.Ю. Состояние некоторых показателей прооксидантной и антиоксидантной систем крови у больных острой дизентерией // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. - № 1. – С. 39-41.
8. Жаворонок Т.В., Степанова Е.А., Рязанцева Н.В. и др. Нарушение «окислительного» метаболизма при острых воспалительных заболеваниях // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2006. - № 12. – С. 10-14.
9. Новик Е.С. Клинико-патогенетическое значение свободнорадикальных процессов у детей, больных менингококковой инфекцией: Дис. ... канд. мед. наук. - Хабаровск, 2007. – 198 с.
10. Пигаревский, В.Е., Мазинг Ю.А. Лизосомально-катионный тест: Метод. письмо. – М. - 1990. - С. 13-16.
11. Плехова, Г.Г. Метаболическая активность макрофагов, зараженных nantaviruses – возбудителями геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Биохимия. - 2005. – Т. 70. - № 9. - С. 1198-1208.
12. Практическое руководство по антимикробной химиотерапии / Под ред. Страчунского Л.С., Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. - М.: Боргес, 2002. – 384 с.
13. Сомова Л.М., Плехова Н.Г., Дробот Е.И. Реактивность фагоцитирующих клеток при инициации инфекционно-воспалительных процессов // Успехи современной биологии. - 2011. – Т. 131, № 1. - С. 37-49.
14. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. - М.: «Издательство «Наука», 2000. – 223 с.
15. Кравцов А.Л., Шмелькова Т.П. и др. Феномен внеклеточной бактерицидности нейтрофилов и механизмы защиты бактерий от действия лейкоцитарной эластазы // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2007. - № 1. - С. 49-50.
16. Cross A.R., Jones O.T.G. Enzymic mechanisms of superoxide production // Biochim. Biophys. Acta. – 1991. – Vol. 1057. – P. 281–298.
17. Plekhova N.G., Somova-Isachkova L.M., Shubin F.N. Defensive function of phagocytes in Pseudotuberculosis // Advanc. in experiment. medic. and biol. The genius Yersinia. Enter. The functional genomic era. – 2003. - № 529. – P. 161–164.

Сведения об авторах

Молочный Владимир Петрович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой детских инфекционных болезней ГБОУ ВПО ДВГМУ, E-mail: dib1962@mail.ru

Протасеня Ирина Ивановна – д.м.н., профессор кафедры детских инфекционных болезней ГБОУ ВПО ДВГМУ Минздрава РФ

Солодовникова Ольга Николаевна – к.м.н., ассистент кафедры детских инфекционных болезней ГБОУ ВПО ДВГМУ Минздрава РФ