

2. *Chow J.W., Fine M.J., Shlaes D.M. et al.* Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy // *Ann. Intern. Med.*— 1991.— Vol.115, № 8.— P.585—590.
3. *Crauen D.T., Steger K.A., Barber T.W.* Preventing nosocomial pneumonia: state of the art and perspectives for the 1990s // *Am. J. Med.*— 1991.— Vol.91, № 3.— PtB.— P.44S—53S.
4. *Croce M.A., Fabian T.C., Stewart R.M., Pritchard F.E., Minard G., Trentham L., Kudsk K.A.* Empiric monotherapy versus combination therapy of nosocomial pneumonia in trauma patients // *J. Trauma.*— 1993.— Vol.35, № 2.— P.303—311.
5. *Fagon J.Y., Chastre J., Hance A.J., Novara A., Gibert C.* Nosocomial pneumonia in ventilated patients: a cohort study evaluating attributable mortality and hospital stay // *Am. J. Med.*— 1993.— Vol.94, № 3.— P.281—288.
6. *Fagon J.Y., Chastre J., Vuagnat A., Trouillet J.L., Novara A., Gibert C.* Nosocomial pneumonia and mortality among patients in intensive care units // *J. Am. Med. Assoc.*— 1996.— Vol.275, № 11.— P.866—869.
7. *Kollef M.H.* Ventilator-associated pneumonia: a multivariate analysis // *Ibid.*— 1993.— Vol.270, № 16.— P.1965—1970.
8. *Kollef M.H., Wragge T., Pasque C.* Determinants of multiorgan dysfunction in cardiac surgery patients requiring prolonged mechanical ventilation // *Chest.*— 1995.— Vol.107, № 5.— P.1395—1401.
9. *Lipchik R.J., Kuzo R.S.* Nosocomial pneumonia // *Radiol. Clin. North Am.*— 1996.— Vol.34, № 1.— P.47—58.
10. *Mandell L.A., Marrie T.J., Niederman M.S.* and the Canadian Hospital Acquired Pneumonia Consensus Conference Group. Initial antimicrobial treatment of hospital acquired pneumonia in adults: a conference report // *Can. J. Infect. Dis.*— 1993.— Vol.4.— P.317—321.
11. *Meyer K.S., Urban C., Eagan J.A., Berger B.J., Rahal J.J.* Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins // *Ann. Intern. Med.*— 1993.— Vol.119, № 5.— P.353—358.
12. *Rello J., Ausina V., Ricart M., Castella J., Prats G.* Impact of previous antimicrobial therapy on the biology and outcome of ventilator-associated pneumonia // *Chest.*— 1993.— Vol.104, № 16.— P.1230—1235.
13. *Rello J., Ausina V., Ricart M., Puzo C., Quintana E., Net A., Prats G.* Risk factors for infection by Pseudomonas aeruginosa in patients with ventilator-associated pneumonia // *Intensive Care Med.*— 1994.— Vol.20, № 3.— P.193—198.
14. *Rello J., Torres A., Ricart M., Valles J., Gonzales J., Artigas A., Rodrigues-Roisin R.* Ventilator associated pneumonia by Staphylococcus aureus. Comparison of methicillin-resistant and methicillin-sensitive episodes // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.150.— P.1545—1549.
15. *Weinstein R.A.* Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units // *Am. J. Med.*— 1991.— Pt 3, Suppl. B.— P.179S—184S.

Поступила 03.07.98.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.24-003.4-004.1-07:616.233-007.271-07

*Л.А.Желенина, М.Е.Фаустова, Е.К.Доценко, Т.В.Булгакова, А.В.Орлов,
В.А.Гончарова, Л.А.Вишнякова, Т.Е.Гембицкая*

МЕХАНИЗМЫ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

Государственный научный центр пульмонологии Минздрава России,
Детская городская больница Св.Ольги, Санкт-Петербург

BRONCHIAL OBSTRUCTION MECHANISMS IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

*L.A.Jelenina, M.E.Faustova, E.K.Dotsenko, T.V.Bulgakova, A.V.Orlov, V.A.Goncharova, L.A.Vishniakova,
T.E.Guembitskaya*

Summary

Complex examination of physical and chemical features of bronchial secretion in 42 children aged from 5 to 15 years suffering from cystic fibrosis revealed a significant increase of visco-elastic properties of pathologic bronchial secretion, an increase of biological active substances content as well as a marked imbalance of proteinase-inhibitory system depending on the etiology and activity of lung infectious process.

Резюме

Комплексное исследование физико-химических свойств бронхиального секрета у 42 детей, больных муковисцидозом, в возрасте от 5 до 15 лет выявило значительное повышение вязко-эластических свойств патологического секрета в бронхах, увеличение содержания биологически активных веществ и выраженный дисбаланс протеиназоингибиторной системы в зависимости от этиологии и активности инфекционного процесса в легких.

Ведущим звеном патогенеза бронхиальной обструкции у больных муковисцидозом является нарушение мукоцилиарного клиренса за счет резкого увеличения

вязкости бронхиального секрета и повышения его осмолярности из-за генетически обусловленного нарушения функции хлоридных каналов, вследствие чего

анионы хлора задерживаются в клетке, усиливают абсорбцию натрия и воды, высушивая слизь, продуцируемую экзокринными железами. Вязкий бронхиальный секрет больного муковисцидозом тормозит движение ресничек бронхиального эпителия, что препятствует процессу самоочищения бронхов, способствует росту патогенной флоры, развитию хронического инфекционного воспалительного процесса в легких и приводит к еще большему ухудшению бронхиальной проходимости [6,13].

Целью работы явилось комплексное изучение механизмов бронхиальной обструкции у больных муковисцидозом на высоте инфекционного процесса в легких, которое включало исследование реологических свойств и ряда биохимических компонентов мокроты: белка, эластазы, α_1 -антитрипсина, гистамина, серотонина.

Реологические свойства мокроты определялись с помощью компьютерного анализа процесса утончения капиллярной нити мокроты при помощи устройства Реотестер [2]. Контролируемым параметром являлась упруговязкая характеристика жидкости — время релаксации, определение которого позволяло косвенно оценивать возможности мукоцилиарного клиренса содержимого бронхов в динамике бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом [3].

Эластолитическая активность мокроты определялась спектрофотометрическим методом [5].

Сиаловые кислоты в мокроте определялись по методу Гесса фотометрическим способом [7].

Для определения концентрации α_1 -антитрипсина использовался метод ракетного электрофореза [1]. Для объективизации полученных результатов концентрацию энзима рассчитывали на содержание белка в анализируемой пробе, который определяли по методу Лоури.

Биогенные амины исследовались флюориметрическим методом [8]. В основу этого метода положено образование флюоресцирующих комплексов гистамина с ортофталевым альдегидом и серотонина с нингидрином.

Материалом для исследования служила утренняя мокрота больных муковисцидозом, которая обрабатывалась по методу, разработанному во ВНИИ пульмонологии [9].

В результате исследования вязкоэластических свойств мокроты 42 больных муковисцидозом в возрасте от 5 до 15 лет было установлено, что время релаксации ее нити изменялось в зависимости от фазы течения воспалительного процесса в легких (табл.1).

В результате анализа полученных данных было установлено, что время релаксации нити мокроты на высоте манифестного обострения равнялось 0,073 сек и было примерно в 1,5 раза выше, чем при вялотекущем обострении — 0,047 сек ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствовали о повышении вязкости мокроты на высоте манифестного обострения бронхолегочного процесса, что подтверждалось клиническими данными (низкая эффективность экспекторации, ослабление дыхания и пр.), снижением показателей функциональных исследований легких (см. табл.1). На высоте манифестного обострения в мокроте больных

муковисцидозом определялось больше белка, чем у детей с вялотекущим инфекционным процессом в легких ($p < 0,001$). Параллельно с повышением содержания белка резко повышался уровень сиаловых кислот ($p < 0,001$). При манифестном обострении бронхолегочного процесса уровень эластазы в 6,5 раза превышал таковой при вялотекущем бронхолегочном процессе ($p < 0,001$), примерно то же соотношение (7 раз) наблюдалось и при анализе уровня α_1 -антитрипсина в мокроте пациентов в различные фазы заболевания ($p < 0,001$). Полученные данные свидетельствовали о выраженном местном воспалительном процессе и значительном изменении биохимических характеристик бронхиального секрета, что существенно нарушало его физические свойства, повышало вязкость и способствовало формированию и прогрессированию обструктивного синдрома в бронхиальном дереве [9,10].

Известно, что синтез α_1 -антитрипсина можно рассматривать как локальную защитную реакцию, так как он является основным ингибитором эластазы нейтрофилов и протеиназ бактериального происхождения, вызывающих деструкцию ткани легкого [17]. В настоящее время существует теория, согласно которой в развитии хронических обструктивных заболеваний легких основную роль играет дисбаланс в системе протеиназы—ингибиторы. Нарастание протеолитической активности в бронхиальной стенке и просвете бронха приводит к протеинолизу мембран клеток и их рецепторной системы, что сопровождается изменением фун-

Таблица 1

Биохимический состав и вязкоэластические свойства мокроты у больных муковисцидозом в зависимости от характера течения инфекционного воспалительного процесса в легких

Исследуемые параметры	Острое воспаление n=20	Вялотекущее воспаление n=22
Время релаксации нити мокроты, сек	0,073±0,006*	0,047±0,006*
Белок, мг/мл	8,83±0,916**	2,27±0,101**
Сиаловые кислоты, усл. ед.	155,0±23,0**	46,2±11,4**
Эластаза, нмоль/мл·мин	176,8±20,3**	27,7±6,8**
α_1 -антитрипсин, мг/л	279,0±59,96**	37,87±8,47**
Гистамин, мкмоль/л	0,70±0,23	0,51±0,065
Серотонин, мкмоль/л	7,40±1,56*	1,73±0,50*
Экспекторация мокроты	Не эффективна	Мало эффективна
Характер мокроты	Слизисто-гнойная	Слизисто-гнойная
Характер дыхания	Резко ослаблено	Ослабленное
ЖЕЛ, % от должных	58,9±6,7*	74,9±6,5*
ОФВ ₁ , % от должных	52,7±8,9*	72,4±7,4*

Примечание. * — различия достоверны при $p < 0,05$, ** — при $p < 0,005$.

Таблица 2

Биохимические показатели мокроты больных муковисцидозом на высоте обострения в зависимости от этиологии инфекционного воспалительного процесса в легких

Биохимические показатели	Синегнойная инфекция (острое течение)	Несинегнойные инфекции (острое течение)
Белок, г/л	10,4±0,363*	6,45±0,332*
Сиаловые кислоты, усл. ед.	182,0±20,0*	122,0±22,0*
Эластаза, нмоль/мл.мин	235±34,2**	44,8±9,5**
α ₁ -антитрипсин, мг/л	306,0±62,3*	117,7±28,0*
Гистамин, мкмоль/л	0,70±0,12	0,65±0,21
Серотонин, мкмоль/л	7,90±1,24	7,33±2,84
Время релаксации нити мокроты, сек	0,055±0,0073*	0,092±0,010*

Примечание. * — различия достоверны при $p < 0,05$, ** — при $p < 0,005$.

кциональной активности рецепторов клеток респираторных органов [12]. Кроме того, ограниченный протеинолиз мембран клеток сопровождается высвобождением биологически активных веществ — БАВ (гистамина, серотонина и др.), которые непосредственно и через рецепторную систему действуют на гладкие мышцы бронхов, вызывая бронхоспазм, а также гиперсекрецию слизистых желез, что имеет защитный характер и направлено на элиминацию антигенов из дыхательных путей. В различные фазы активного воспаления у больных муковисцидозом концентрация гистамина в мокроте колебалась от 0,70 до 0,51 мкмоль/л (см. табл.1), в то время как содержание серотонина было в 4 раза выше у больных в периоде манифестного обострения (7,40 и 1,73 мкмоль/л). Высокая концентрация серотонина в мокроте больных в период манифестного обострения, с одной стороны, вероятно, обусловлена выраженной дегрануляцией клеток — депо серотонина в условиях гипоксии и гиперкапнии [15], а с другой — сниженным ферментативным катаболизмом этого амина в легких больных муковисцидозом, где он главным образом инактивируется [4], в отличие от инактивации гистамина, которая в основном происходит в слизистой тонкого кишечника, печени, почках, коже и, в меньшей степени, легких.

При анализе биохимических показателей и реологических свойств мокроты на высоте обострения в зависимости от этиологии инфекционного процесса в легких были получены данные, приведенные в табл.2.

Несмотря на небольшое число наблюдений, было установлено, что при синегнойной инфекции в легких все исследуемые нами биохимические показатели мокроты были выше, чем при стафилококковом и/или гемофильном и пневмококковом процессах в легких (несинегнойные инфекции). Особенно резко увеличивался уровень эластазы, который в 5 раз превышал концентрацию этого фермента в мокроте детей, не имев-

ших *Ps.aeruginosa* ($p < 0,001$), вместе с тем уровень α₁-антитрипсина у детей с синегнойной инфекцией был только в 2,6 раза выше, чем у пациентов с несинегнойными инфекциями в легких. Выявленное соотношение ингибитор—протеиназа у детей с синегнойной инфекцией составляло 1,3; а при других инфекционных агентах — 2,6; что свидетельствовало о дисбалансе в протеиназо-ингибиторной системе и, вероятно, являлось достаточно действенным механизмом изменения вязкости продуцируемого бронхиального секрета вследствие усиления процессов протеолиза [9] у пациентов с синегнойной инфекцией. Последнее подтверждалось результатами исследования времени релаксации нити мокроты, так как при синегнойной инфекции оно равнялось 0,055±0,0073 сек (от 0,1 до 0,038 сек), а при других инфекциях в легких, вызванных *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, *S.aureus*, составляло 0,092±0,010 сек (от 0,135 до 0,052 сек), $p < 0,01$. Полученные данные подтверждают сведения о способности *Ps.aeruginosa* разжижать мокроту за счет деполимеризации макромолекул в силу выраженной активности собственных протеолитических ферментов микроба.

Концентрация гистамина и серотонина в мокроте на высоте обострения не отличалась у детей с синегнойной и несинегнойной этиологией воспалительного процесса в легких (см. табл.2). Полученные данные указывали на выраженное местное воспаление, и свидетельствовали о способности микробов (*Ps.aeruginosa*, *H.influenzae*) синтезировать гистамин [14,21], а также высвобождать его из базофилов и тучных клеток иммунным и/или неиммунным, взаимодействуя с мембранными лектинами, путями [19]. Для подтверждения способности синегнойной и гемофильной палочек *in vitro* синтезировать гистамин было выполнено определение уровня этого амина в культуральных средах, на которых выращивались данные патогены, с дополнительным введением в нее гистидина. Так, при исследовании 33 штаммов *H.influenzae*, выделенных у больных муковисцидозом, было установлено, что 19 из них не синтезировали гистамин из гистидина, а 14 обладали этой способностью. Средняя концентрация гистамина, продуцируемого бактериями, составляла 94,5 мкмоль/л (от 13,3 до 229,5 мкмоль/л). При флюориметрическом анализе культуральных сред, на которых выращивались 36 штаммов *Ps.aeruginosa*, было выявлено, что 24 из них обладали способностью синтезировать гистамин, средняя концентрация его составляла 20,8 мкмоль/л (от 0 до 107,5 мкмоль/л). Полученные данные подтверждают патогенетическую роль определенных штаммов *H.influenzae* в формировании бронхообструктивного синдрома при муковисцидозе за счет изменения уровней биогенных аминов в легких. Несмотря на выявленную в опытах *in vitro* относительно невысокую способность *Ps.aeruginosa* синтезировать гистамин, учитывая длительность текущего хронического воспаления в легких, обусловленного данным видом патогенов, а также массивность обсеменения псевдомонадами дыхательных путей, нельзя также исключить значение этого микроорганизма в

формировании бронхообструктивного синдрома за счет повышения уровня биологически активных веществ. Таким образом, сам факт обнаружения различий в уровне БАВ в мокроте у больных муковисцидозом и их однонаправленность в зависимости от фазы воспаления и вида патогенного возбудителя свидетельствуют, с одной стороны, о глубоком нарушении метаболизма биогенных аминов в легких, чему способствует снижение процессов катаболизма БАВ [4,11] за счет метаболического ацидоза, имеющего место у больных муковисцидозом в период обострения бронхолегочного процесса, а, с другой стороны, биогенные амины могут оказывать влияние на водно-электролитный баланс, нарушая транспорт ионов Na и Cl через клеточную мембрану, что приводит к обезвоживанию бронхиального секрета при муковисцидозе [15,18] и усугубляет имеющиеся нарушения бронхиальной проходимости. На основании полученных нами результатов исследований реологических свойств и биохимических показателей мокроты больных муковисцидозом, даже с учетом неоднородности изучаемого субстрата, сложности трактовки полученных данных из-за разнонаправленности влияющих на состояние содержимого бронхов факторов, можно высказать предположение о значительных нарушениях химического состава бронхиального содержимого, особенно в активную фазу воспаления и при синегнойной инфекции в легких, что существенно изменяло его физколлоидные свойства, увеличивало вязкость и затрудняло мукоцилиарный клиренс. Нельзя исключить, что выявленный дисбаланс в системе протеиназы—ингибиторы способствовал прогрессированию обструктивных изменений в легких за счет нарушения эластической архитектуры альвеолярных стенок. Обнаруженные различия в концентрации БАВ в мокроте отражали характер и глубину поражений метаболических функций легких и указывали на их важную роль в патогенезе бронхообструктивного синдрома у больных муковисцидозом. Последнее ухудшает и без того замедленный мукоцилиарный клиренс и влечет за собой хронизацию инфекционного воспалительного процесса, образование “порочного круга” тканевого повреждения и развитие в конечном итоге выраженной тотальной обструкции воздухоносных путей и дыхательной недостаточности, приводящей к гибели больных. Вместе с тем уточнение и знание сложных механизмов прогрессирования обструкции у больных муковисцидозом позволяют включать в схемы лечения ряд препаратов, направленных на исправление выявленных дефектов.

1. Аксельсен Н., Крелль И., Вееке Б. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу.— М.: Мир, 1977.— С.200.
2. Базилевский А.В., Рожнов А.Н., Фаустова М.Е. Реологический контроль муколитической терапии у больных неспецифическими заболеваниями легких // Пульмонология.— 1992.— № 4.— С.17—20.
3. Добрых В.А., Базилевский А.В., Рожнов А.Н. Изучение вязкоупругих свойств содержимого дыхательных путей методом утончающейся нити // Лаб. дело.— 1988.— № 7.— С.26—27.
4. Дубилей П.В., Уразаева З.В., Хамитов Х.С. Барьерная функция легких и обеспечение гомеостаза.— Казань: Казанский ун-т, 1987.— 192 с.
5. Каминская Т.О., Жукова Н.А., Степанян И.Э. Сравнение двух методов и оценки полученных результатов при исследовании эластической активности мокроты // Лаб. дело.— 1984.— № 2.— С.110—113.
6. Капранов Н.И., Рачинский С.В. Муковисцидоз.— М., 1995.— 188 с.
7. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия.— Минск: Беларусь, 1976.— 230 с.
8. Прошина Л.Я. Исследование гистамина и серотонина в одной пробе крови // Лаб. дело.— 1981.— № 2.— С.90—92.
9. Страшинина О.А., Щербань Э.И. Особенности биохимических и цитологических показателей мокроты у больных с патологическим процессом в легких // Тер. арх.— 1979.— № 4.— С.37—40.
10. Сыромятникова Н.В. Метаболизм легких при неспецифических заболеваниях органов дыхания.— Л., 1979.— С.106—113.
11. Тулеев Н.Р., Гомазков О.А. Роль эндотелиальных клеток в регуляции метаболической функции легких // Пат. физиол.— 1984.— № 1.— С.78—82.
12. Федосеев Г.Б. Механизмы обструкции бронхов — СПб., 1995.— 333 с.
13. Чучалин А.Г., Воронина Л.М., Кронина Л.А., Салконова М.В. Муковисцидоз у взрослых: этиология, патогенез, перспективы лечения // Пульмонология.— 1994.— № 3.— С.17—22.
14. Devalia J.L., Crady D., Harmanyer Y., Tabaqchali S., Davies R.J. Histamine synthesis by respiratory tract microorganisms: a possible role in pathogenicity // J. Clin. Pathol.— 1989.— Vol.42.— P.516—522.
15. Jonson D.E., Gorgieff M.K. Pulmonary neuroendocrine cells // Am. Rev. Respir. Dis.— 1989.— Vol.140, № 65.— P.1807—1812.
16. Kim W.D. Lung mucus: a clinician's view // Eur. Respir. J.— 1977.— Vol.10.— P.1914—1917.
17. Lamontagne L.R., Stadnyk A.W., Gaudie J. Synthesis of α_1 -protease inhibitor by resident and activated mouse alveolar macrophages // Am. Rev. Respir. Dis.— 1985.— Vol.131, № 3.— P.321—325.
18. Marin M.C., Davis B., Nadel I.A. Effect of histamine on electrical and ion transport properties of tracheal epithelium // J. Appl. Physiol.— 1977.— Vol.42, № 5.— P.735—738.
19. Norn S., Staheskov P., Jensen G., Esrersen P., Jarlov J.C., Koch C. Bacteria and their products release histamin and potentiale mediator release: new aspects in airway disease // Eur. J. Respir. Dis.— 1986.— Vol.69, Suppl.147.— P.230—234.
20. Pavia D. Acute respiratory infections and mucociliary clearance // Ibid.— 1987.— Vol.71.— P.219—226.
21. Zimmerman I., Buglhodealmids A.A., Ulmer W.T. Untersuchungen zum Histamin-gehalt in Sputum von Patients mit obstructives Bronchitis // Respiration.— 1989.— Vol.51, № 1.— P.10—15.