

ПЕДІАТРІЯ

УДК 616.23/24-007.17.036.66-008.8-07-053.37

*О.Л. Логвінова**Харківський національний медичний університет***МАРКЕРИ ПЕРЕБІГУ БРОНХОЛЕГЕНЕВОЇ ДИСПЛАЗІЇ
ПРИ АНАЛІЗІ ІНДУКОВАНОГО МОКРОТИННЯ
В ПЕРІОДІ РЕМІСІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ**

Проведено 620 обстежень індукованого мокротиння недоношеним дітям у віці від 1 місяця до 36 місяців: 491 обстеження дітей з діагнозом бронхолегенева дисплазія та 129 спостережень недоношених, які мали респіраторні розлади, але не сформували бронхолегеневу дисплазію. Показано, що для дітей, хворих на бронхолегеневу дисплазію в періоді ремісії, було характерним густе індуковане мокротиння (KW $H(n=620)=37,14$; ранг – 5,2; $p=0,0001$) зі значною кількістю позаклітинних бактерій (λ Уілкса=0,701; $F(4,61)=65,46$; $p=0,0001$), лейкоцитів та альвеолярних макрофагів (λ Уілкса=0,767; $F(2,67)=93,49$; $p=0,0001$). Мікробіологічним маркером бронхолегеневої дисплазії було мікст-інфікування умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами (KW $H(n=620)=27,8$; ранг – 4,49; $p=0,0001$). Мікст-інфікування впливало на високу частоту бронхообструктивного синдрому ($r=0,382$; $p<0,05$) та тяжкість бронхолегеневої дисплазії ($r=0,600$; $p<0,05$), а персистенція *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* корелювала з високою летальністю від бронхолегеневої дисплазії ($r=0,301$; $p<0,05$).

Ключові слова: діти, бронхолегенева дисплазія, індуковане мокротиння.

Бронхолегенева дисплазія (БЛД) – хронічне легеневе захворювання, яке виникає у недоношених, звичайно після механічної вентиляції [1]. Останні двадцять років привели до значного поліпшення виживаності новонароджених з дуже низькою масою тіла за рахунок використання антенатальних стероїдів, сурфактантної терапії та зміни вентиляційної стратегії [2, 3]. Однак рівень захворюваності на БЛД серед недоношених зберігається на високому рівні [4]. При аналізі етіології БЛД вчені довели, що одним із головних чинників формування захворювання є запалення. Визначено роль нуклеарного фактора (NF)- κ B як головної детермінанти індукції запального ураження. NF- κ B знаходиться в клітині і пов'язаний з інгібітором κ B у вигляді комплексу NF- κ B- κ B. Вивільненню NF- κ B сприяють різні механізми, в тому числі

гіпероксія, травма та інфекція. Активація нуклеарного фактора сприяє транскрипції прозапальних медіаторів. Так, виникає ураження паренхіми легень недоношених [5, 6].

Деякі автори відмічають, що у більшості хворих на БЛД у мокротинні підвищується рівень лейкоцитів та епітеліальних клітин у постнеонатальному періоді, а функція легень тривалий час абнормальна [7]. Досі вивчається роль запального ураження бронхів та легень у наслідках БЛД. Не визначено динаміку співвідношення елементів мокротиння залежно від віку, тяжкості захворювання, особливості мокротиння при несприятливому прогнозі БЛД.

Мета роботи – визначення маркерної ролі індукованого мокротиння в періоді ремісії бронхолегеневої дисплазії задля вдосконалення діагностики захворювання.

© О.Л. Логвінова, 2014

Матеріал і методи. Дослідження проводилося на кафедрі педіатрії № 1 та неонатології Харківського національного медичного університету (завідувач кафедри – Г.С. Сенаторова) в Обласному центрі діагностики та лікування БЛД у дітей Харківської обласної дитячої лікарні (головний лікар – Г.Р. Муратов). Аналізували індуковане мокротиння у недоношених у віці від 1 місяця до 36 місяців (620 спостережень): 491 обстеження дітей з діагнозом БЛД (основна група) та 129 спостережень недоношених, які мали респіраторні розлади, але не сформували БЛД (група порівняння). Для аналізу мокротиння використовували метод індукції мокротиння. Протягом 5 хвилин проводили інгаляцію через небулайзер 3 % розчином натрію хлориду з подальшою аспірацією мокроти катетером із задньої стінки глотки. Аспірацію проводили одночасно із кашльовим поштовхом. Аналіз індукованого мокротиння включав: макроскопічне дослідження (визначення характеру мокроти, її кількості, кольору, запаху, консистенції, хімічних властивостей), мікроскопічне дослідження (визначення клітинних елементів та інших елементів мокротиння, вивчення мікробної флори в нативних та пофарбованих за Романовським–Гімзою мазках), мікробіологічне дослідження (визначення та вивчення властивостей збудника). Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми «Statistica-6».

Результати та їх обговорення. Нами виявлено, що у дітей основної групи достовірно частіше виявлялося мокротиння жовтуватого і зеленуватого кольорів ($p < 0,001$), у обстежених групи порівняння – безбарвне мокротиння ($p < 0,001$). Маркером БЛД був жовтуватий колір мокроти (KW H($n=620$)=17,7; ранг – 2,17; $p=0,0001$). Зеленувате забарвлення мокротиння не було характерне для БЛД (KW H($n=620$)=7,24; ранг – 1,01; $p=0,04$). Достовірно частіше у хворих основної групи виявлялася мокрота густої ($p < 0,05$) та в'язкої ($p < 0,001$) консистенції. Густе (KW H($n=620$)=37,14; ранг – 5,2; $p=0,0001$) та в'язке (KW H($n=620$)=16,78; ранг – 2,06; $p=0,0001$) мокротиння були ознаками БЛД. Ступінь в'язкості мокротиння корелював із тяжкістю захворювання ($r=0,378$; $p < 0,05$). Надмірна в'язкість мокротиння ймовірно

приводила до гальмування евакуації слизу, obturaції бронхіол, порушень дренажної й елімінаційної функції бронхіального дерева у хворих основної групи та сприяла частому загостренню захворювання при «киснезалежних» ступенях тяжкості захворювання. Рясний секрет діагностовано частіше у дітей групи порівняння ($p < 0,001$), ніж у основній групі.

У всіх дітей, народжених недоношеними, які мали дихальні розлади в ранньому неонатальному періоді, але не сформували БЛД, виявлявся слизуватий характер мокротиння (126 спостережень; 100 %). У дітей основної групи також переважало слизисте мокротиння ($p < 0,001$), проте достовірно частіше у дітей з БЛД, ніж у групі порівняння, мокрота мала слизувато-гнійний характер. Маркером БЛД був слизувато-гнійний характер індукованого мокротиння (KW H($n=620$)=19,04; ранг – 2,31; $p=0,0001$). Значна кількість сухого залишку достовірно частіше виявлялась у дітей основної групи ($p < 0,001$), ніж у дітей групи порівняння. У пацієнтів групи порівняння частіше виявлялась низька кількість сухого залишку ($p < 0,001$). Для хворих на БЛД була характерна помірна кількість фібрину у мокротинні (KW H($n=620$)=44,2; ранг – 7,4; $p=0,0001$).

При дослідженні рН бронхоальвеолярного лаважу виявлено, що у дітей з БЛД реакція секрету була $5,66 \pm 0,52$, що було достовірно вищим, ніж у спостереженні групи порівняння – $7,96 \pm 0,97$ ($p < 0,001$). Підвищення кислотності мокротиння у дітей, хворих на БЛД, нами розцінено як надмірний вміст іонів водню, що утворилися в процесі обміну органічних та неорганічних речовин, а також у результаті життєдіяльності мікроорганізмів. Нормативні показники вмісту загального білка у мокроті, за даними М.А. Базарної [8], становили $(0,324 \pm 0,290)$ г/л. Рівень білка у дітей основної групи дорівнював $(0,352 \pm 0,009)$ г/л, у пацієнтів групи порівняння – $(0,231 \pm 0,004)$ г/л. Рівень загального білка в мокротинні у дітей з БЛД прямо корелював з тяжкістю захворювання ($r=0,234$; $p < 0,05$).

У дітей основної групи рівень цитозу в індукованому мокротинні був достовірно вищим, ніж у групі порівняння, що свідчило про наявність запалення за відсутності загострення БЛД.

Отримані дані дали підставу до аналізу клітин мокротиння. Для адекватної оцінки складу мокротиння нами була визначена абсолютна кількість клітин-ефекторів, оскільки через значний приплив нейтрофілів могла виникнути диспропорція між нейтрофілами та альвеолярними макрофагами індукованого мокротиння, однак оцінка міграції альвеолярних макрофагів недостовірна. Відмічено достовірне збільшення лейкоцитів у дітей з БЛД ($p < 0,0001$), що розцінено нами як приплив імунних клітин до вогнища запалення. У дітей, хворих на БЛД, кількість альвеолярних макрофагів та нейтрофілів була також вищою ($p < 0,0001$), ніж у дітей без БЛД. Кількість еозинофілів не розрізнялась у дітей обстежених груп ($p > 0,05$). Епітеліальні клітини у обстежених були представлені епітелієм бронхів та альвеолярним епітелієм. Кількість епітеліальних клітин у індукованому мокротинні дітей основної групи була достовірно збільшена ($p < 0,001$), що було зумовлено дистрофією та загибеллю епітелію, і нарівні із погіршенням реологічних властивостей мокротиння призводила до гальмування мукоціліарного транспорту. Враховуючи достовірні розбіжності за більшістю показників клітинного складу індукованого мокротиння, проведено дискримінантний аналіз даних (з виключенням найменш значних факторів). Так, за результатами дискримінантного аналізу найбільш впливовими маркерами БЛД були висока абсолютна кількість лейкоцитів і альвеолярних макрофагів у індукованому мокротинні (λ Уїлкса=0,767; $F(2,67)=93,49$; $p=0,0001$).

В обох групах ступінь запалення визначали за результатами суми трьох компонентів (алгоритм Капрала), таких як аналіз характеру секрету, кількості лімфоцитів та альвеолярних макрофагів. У всіх дітей основної групи виявлено ознаки запалення в індукованому мокротинні. Достовірно частіше у хворих на БЛД виявлявся помірний ступінь запалення за методом Капрала ($p < 0,001$). Мінімальний ступінь запалення спостерігався у 32 [(24,8±3,8) %] пацієнтів групи порівняння. Даний феномен ми пояснюємо викидом запальних медіаторів за умов передчасних пологів, штучної вентиляції легень в анамнезі на тлі зниження антиоксидантного потенціалу недоношених. Отримані дані можуть бути осно-

вою подальших досліджень щодо особливостей дихальної системи у недоношених дітей, які мали респіраторні розлади в анамнезі.

При бактеріологічному дослідженні мазків індукованого мокротиння кількість бактерій у хворих основної групи становила (23,80±0,71) од. у полі зору. У спостережених групи порівняння кількість бактерій у мокротинні була достовірно меншою – (6,01±0,18) од. у полі зору ($p < 0,0001$). Бактерії були розташовані як окремими колоніями, так і внутрішньоклітинно у нейтрофілах, макрофагах та епітеліальних клітинах. У дітей основної групи переважали позаклітинні бактерії ($p < 0,0001$). Також достовірно вищим у хворих на БЛД було співвідношення позаклітинних бактерій до внутрішньоклітинних ($p < 0,0001$), що свідчило про значну контамінацію бактеріями трахеобронхіального дерева на тлі можливої послабленої фагоцитарної здатності ефекторних клітин до фагоцитозу у спостережених із БЛД. Співвідношення поза-/внутрішньоклітинних бактерій було тим вище, чим значніше була тяжкість захворювання ($r=0,181$; $p < 0,05$).

При дискримінантному аналізі за мікрота макроскопічними показниками доведено, що для дітей з БЛД характерне густе індуковане мокротиння зі значною кількістю позаклітинних бактерій, лейкоцитів та альвеолярних макрофагів (λ Уїлкса=0,701; $F(4,61)=65,46$; $p=0,0001$).

Колонізацію бактеріями індукованого мокротиння виявлено у (95,5±0,9) % пацієнтів з БЛД. У пацієнтів основної групи в мокротинні виявлялось більше ніж одна бактерія, в середньому (1,47±0,47) виду бактерій. У пацієнтів основної групи грампозитивні бактерії становили (78,87±1,48) % від загальної кількості бактерій. Грамнегативні бактерії у дітей з БЛД виявляли достовірно рідше – (21,19±1,18) % ($p=0,001$). У групі порівняння контамінації бактеріями респіраторного тракту виявлялись у (19,14±2,8) %, що достовірно рідше ($p=0,001$), із них (100±0) % були грампозитивні умовно-патогенні бактерії. У пацієнтів з БЛД достовірно частіше, ніж у дітей групи порівняння, виявляли умовно-патогенні грампозитивні бактерії. Контамінація умовно-патогенними грампозитивними бактеріями *Staphylococcus aureus* (KW $H(n=620)=27,8$; ранг – 4,49; $p=0,0001$), *Staphylococcus epider-*

midis (KW $H(n=620)=25,89$; ранг – 4,06; $p=0,0001$) була характерною ознакою індукованої мокроти дітей з БЛД. Зважаючи на здатність умовно-патогенної флори до порушень роботи війчастого епітелію та посилення запалення респіраторного тракту, індукції гіперактивності дихальних шляхів, можна припустити їхню роль у загостренні БЛД. Нами доведено, що тяжкість БЛД ($r=0,475$; $p<0,05$) та частота бронхообструктивного синдрому ($r=0,463$; $p<0,05$) прямо залежали від кількості умовно-патогенних бактерій в індукованому мокротинні. На смертність у дітей з БЛД колонізація умовно-патогенною флорою не впливала ($r=0,012$; $p>0,05$). У дітей основної групи виявлялись і патогенні бактерії, такі як *Klebsiella pneumonia* [(22,2±0,2)%], *Pseudomonas aeruginosa* [(21,7±0,2)%], *Streptococcus pneumonia* [(3,1±0,7)%], *Moraxella catarrhalis* [(1,0±0,4)%]. Виявлення патогенів у періоді ремісії БЛД було предиктором більш частого загострення БЛД (KW $H(n=620)=129,88$; ранг – 8,64; $p=0,0001$). Маркерною ознакою індукованого мокротиння при БЛД у дітей основної групи було виявлення *Pseudomonas aeruginosa* (KW $H(n=620)=33,92$; ранг – 3,81; $p=0,0001$) та *Klebsiella pneumonia* (KW $H(n=620)=34,69$; ранг – 3,88; $p=0,0001$). *Pseudomonas aeruginosa* та *Klebsiella pneumonia*, ймовірно, були отримані внутрішньогоспітально, враховуючи тривалість знаходження дитини з БЛД у неонатальному стаціонарі. Проте *Pseudomonas aeruginosa* є унікальною бактерією з «соціальною» поведінкою, здатністю до приймання загальних рішень для пристосування, захисту за допомогою «сигнальних» молекул та токсинотворення на тлі зниженої імунної реактивності. *Klebsiella pneumonia* продукує ендотоксин та мембранотоксин, які вражають епітелій бронхів та сприяють гіперреак-

тивності бронхів, запаленню та ексудації рідини. Контамінація патогенними бактеріями впливала на частоту бронхообструктивного синдрому ($r=0,382$; $p<0,05$), тяжкість БЛД ($r=0,600$; $p<0,05$) та смертність дітей з БЛД ($r=0,301$; $p<0,05$). Гриби роду *Candida* в індукованому мокротинні виявлялись у (3,2±0,8)% пацієнтів основної групи. Достовірної різниці за частотою виявлення грибів роду *Candida* в індукованому мокротинні не доведено ($p>0,05$).

Висновки

1. Для дітей, хворих на бронхолегеневу дисплазію в періоді ремісії, характерне густе індуковане мокротиння зі значною кількістю позаклітинних бактерій, лейкоцитів та альвеолярних макрофагів.

2. Мікробіологічним маркером бронхолегеневої дисплазії можна вважати мікст-інфікування умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*). Мікст-інфікування впливало на високу частоту бронхообструктивного синдрому та тяжкість бронхолегеневої дисплазії, а персистенція *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* корелювала з високою летальністю від бронхолегеневої дисплазії.

3. Вважаємо, що персистенція *Pseudomonas aeruginosa* та *Klebsiella pneumonia* водночас була індикатором і індуктором більш тяжкого перебігу бронхолегеневої дисплазії та летального наслідку захворювання.

4. Отримані дані обумовлюють необхідність проведення макро-, мікроскопічного та мікробіологічного досліджень дітям у періоді ремісії бронхолегеневої дисплазії задля виявлення ранніх маркерів загострення захворювання та несприятливого перебігу бронхолегеневої дисплазії.

Список літератури

1. Eber E. Paediatric respiratory medicine / E. Eber, F. Midulla. – Hermes, 2013. – 710 p.
2. Jobe A. H. Bronchopulmonary dysplasia / A. H. Jobe, E. Bancari // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – № 163 (7). – P. 1723–1729.
3. Овсяников Д. Ю. Бронхолегочная дисплазия: естественное развитие, исходы и контроль / Д. Ю. Овсяников // Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 1. – С. 141–149.
4. Pulmonary function outcomes in bronchopulmonary dysplasia through childhood and into adulthood: implications for primary care / D. J. Hayes, J. T. Jr. Meadows, B. S. Murphy [et al.] // Prim. Care Respir. J. – 2011. – № 20 (2). – P. 128–133.

5. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – СПб. : Фолиант, 2008. – 548 с.

6. Wright C. J. Targeting inflammation to prevent bronchopulmonary dysplasia: can new insights be translated into therapies? / C. J. Wright, H. Kirpalani // *Pediatrics*. – 2011. – № 128 (1). – P. 111–126.

7. Wigglesworth J. S. Experimental study system on fetal lung development. Influence of the central nervous / J. S. Wigglesworth, R. M. Winston, K. Bartlett // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – № 357. – P. 1190–1198.

8. Базарнова М. А. Руководство по клинической лабораторной диагностике / М. А. Базарнова. – К. : Вища школа, 1991. – С. 3–45.

О.Л. Логвинова

МАРКЕРЫ ТЕЧЕНИЯ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ ПРИ АНАЛИЗЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ В ПЕРИОДЕ РЕМИССИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Проведено 620 обследований индуцированной мокроты недоношенным детям в возрасте от 1 месяца до 36 месяцев: 491 обследование детей с диагнозом бронхолегочная дисплазия и 129 наблюдений недоношенных, которые имели респираторные расстройства, но не сформировали бронхолегочной дисплазии. Показано, что для детей, больных бронхолегочной дисплазией в периоде ремиссии, была характерна густая индуцированная мокрота (KW H(n=620)=37,14; ранг – 5,2; p=0,0001) со значительным количеством внеклеточных бактерий (λ Уилкса=0,701; F(4,61)=65,46; p=0,0001), лейкоцитов и альвеолярных макрофагов (λ Уилкса=0,767; F(2,67)=93,49; p=0,0001). Микробиологическим маркером бронхолегочной дисплазии было микст-инфицирование условно-патогенными и патогенными микроорганизмами (KW H(n=620)=27,8; ранг – 4,49; p=0,0001). Микст-инфицирование влияло на высокую частоту бронхообструктивного синдрома ($r=0,382$; p<0,05) и тяжесть бронхолегочной дисплазии ($r=0,600$; p<0,05), а персистенция *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* коррелировала с высокой летальностью от бронхолегочной дисплазии ($r=0,301$; p<0,05).

Ключевые слова: дети, бронхолегочная дисплазия, индуцированная мокрота.

О.Л. Logvinova

MARKERS OF BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA IN ANALYSIS OF INDUCED SPUTUM DURING PERIODS OF REMISSION

The 620 samples of induced sputum examination premature infants aged 1 month to 36 months: 491 examinations of children diagnosed with bronchopulmonary dysplasia and 129 observations preterm who had respiratory disorders, but did not form bronchopulmonary dysplasia. It is shown, that for children with bronchopulmonary dysplasia in remission was characterized by thick-induced sputum (KW H(n=620)=37,14; rank – 5,2; p=0,0001) with a significant number of extracellular bacteria (λ Uilks=0,701; F(4,61)=65,46; p=0,0001), white blood cells and alveolar macrophages (λ Uilks=0,767; F(2,67)=93,49; p=0,0001). Microbiological marker of bronchopulmonary dysplasia is mixt-infection opportunistic pathogenic and pathogenic microorganisms (KW H(n=620)=27,8; rank – 4,49; p=0,0001). Mixt-infection affect the high frequency of bronchial obstruction syndrome ($r=0,382$; p<0,05) and severity of bronchopulmonary dysplasia ($r=0,600$; p<0,05), and persistence of *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* correlated with a high mortality rate of bronchopulmonary dysplasia ($r=0,301$; p<0,05).

Key words: children, bronchopulmonary dysplasia, induced sputum.

Поступила 31.10.14