

Влияние низкоинтенсивного лазерного облучения крови на функциональную активность нейтрофилов у больных внебольничной пневмонией

Н.М. БУРДУЛИ, А.А. ГАБУЕВА

ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Владикавказ, Республика Северная Осетия — Алания, Россия

Цель — изучение влияния низкоинтенсивного лазерного облучения крови на показатели теста с нитросиним тетразолием (НСТ) у больных внебольничной пневмонией. **Пациенты и методы.** Обследованы 100 пациентов с внебольничной пневмонией, из них 70 человек дополнительно к медикаментозной терапии получали процедуры внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) по методике ВЛОК-405 в течение 7 дней. Функциональную активность нейтрофилов определяли по их способности восстанавливать НСТ в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. **Результаты.** При анализе результатов исследования выявлено достоверное улучшение показателей НСТ-теста в группе больных, получавших дополнительно процедуры ВЛОК как при исходно повышенном, так при исходно сниженном его содержании. **Выводы.** Включение ВЛОК в комплексную терапию больных внебольничной пневмонией способствует нормализации бактерицидной активности нейтрофилов.

Ключевые слова: лазерная терапия, НСТ-тест, внебольничная пневмония.

The influence of low-intensity laser radiation on the functional activity of neutrophils in the patients presenting with community-acquired pneumonia

N.M. BURDULI, A.A. GABUEVA

State budgetary educational institution of higher professional education «North-Ossetian State Medical Academy», Russian Federation Ministry of Health, Republic of North Ossetia — Alania, Vladikavkaz, Russia

Aim. The objective of the present study was to elucidate the influence of low-intensity laser radiation on the results of the nitroblue tetrazolium (NBT) test in the patients presenting with community-acquired pneumonia. **Patients and methods.** A total of 100 patients with community-acquired pneumonia were available for the examination of whom 70 were treated with intravenous low-intensity laser irradiation of blood (ILIB) by means of the ILIB-405 technique during 7 days. The functional activity of neutrophils was estimated from their ability to reduce nitroblue tetrazolium in both spontaneous and stimulated NBT-tests. **Results.** The analysis of the data obtained in the study has demonstrated the significant improvement of the results of the NBT tests in the group of patients receiving the ILIB treatments regardless of whether its content was originally elevated or reduced. **Conclusion.** The inclusion of intravenous low-intensity laser irradiation of blood in the combined treatment of the patients with community-acquired pneumonia appreciably promotes normalization of the bactericidal activity of neutrophils.

Keywords: intravenous low-intensity laser irradiation of blood, NBT-test, community-acquired pneumonia.

Внебольничная пневмония (ВП) остается одной из самых распространенных острых неспецифических патологий легких и представляет важнейшим социально значимым инфекционным заболеванием населения всех возрастов и профессий. Учитывая тяжесть клинического течения, частое развитие осложнений и возможный затяжной характер воспалительного процесса, возникает необходимость в более глубоком изучении и постоянном совершенствовании методов, позволяющих судить об активности воспалительного процесса, а также в поиске способов его скорейшего разрешения.

Как известно, развитие и исходы острого воспаления зависят от функционального состояния ней-

трофилов, ответственных за процесс фагоцитоза и внутриклеточное переваривание возбудителей инфекционных заболеваний [1]. В результате гиперактивации нейтрофилов происходит высвобождение ферментов и факторов бактерицидности во внеклеточное пространство [2].

Данные литературы свидетельствуют о том, что фагоцитарная способность нейтрофилов может варьировать под действием различных антигенов и токсинов [3]. Так, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов наблюдается при хронически

Сведения об авторах:

Бурдули Николай Михайлович — д.м.н., проф., зав. каф. внутренних болезней №5 ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России; *Габуева Алла Александровна* — асп. каф. внутренних болезней №5 ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, e-mail gabueva.alla.a@mail.ru

протекающих заболеваниях, в то время как при остром воспалительном процессе отмечается повышенная активность лейкоцитов [4].

В последние годы большое внимание уделяется использованию лазерной терапии в лечении бронхолегочных заболеваний. В клинических исследованиях показано, что применение внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) активизирует иммунную систему, вызывает усиление бактерицидной активности сыворотки крови и системы комплемента, улучшает динамику показателей функции внешнего дыхания, способствует уменьшению тяжести заболевания [5].

Несмотря на имеющиеся данные, остаются не до конца изученными вопросы применения низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в комплексной терапии ВП, а именно его влияние на функциональную активность нейтрофилов, оцениваемую по значению теста с нитросиним тетразолием (НСТ).

Цель настоящей работы — изучение влияния НИЛИ крови на показатели НСТ-теста у больных ВП.

Пациенты и методы

Под наблюдением находились 100 больных ВП в возрасте от 19 до 75 лет (средний возраст 54 ± 14 лет), в том числе 61 (61%) мужчина и 39 (39%) женщин. Диагноз «пневмония» устанавливался на основании характерных жалоб на повышение температуры тела, кашель с отделением мокроты, боль в грудной клетке, связанную с дыханием или кашлем, физических данных, показателей лабораторных методов исследования, свойственных данной патологии, а также инфильтративных изменений на рентгенограмме.

Обследование больных проводили утром в 1-й и 2-й дни госпитализации и через 3—4 дня после завершения лечения. Все больные случайным методом были разделены на 2 группы: контрольную ($n=30$) и основную ($n=70$). Группу сравнения составили 30 практически здоровых лиц, которые были обследованы для получения средних нормальных значений изучаемых показателей.

С учетом тяжести течения ВП все больные были распределены на 3 группы: легкое течение воспалительного процесса наблюдалось у 15 (21,2%) пациентов основной группы и 7 (23,3%) больных контрольной группы; среднетяжелое течение заболевания — у 42 (60%) пациентов основной группы и 18 (60%) больных контрольной группы; тяжелое течение процесса — у 13 (18,5%) пациентов основной группы и 5 (16,6%) больных контрольной группы.

Медикаментозная терапия проводилась всем больным в течение 10—14 дней в соответствии со стандартом лечения ВП. Антибактериальная терапия в составе макролида и цефалоспорины III поко-

ления назначалась эмпирически. Больным основной группы дополнительно к традиционной терапии проводился курс ВЛОК. Для внутривенной лазерной терапии использовали аппарат Матрикс-ВЛОК («Матрикс», Россия) с длиной волны 0,405 мкм, выходной мощностью на торце магистрального световода 1 мВт [6]. Лазерное облучение проводили в течение 5—7 мин в непрерывном режиме излучения, курс лечения состоял из 7 процедур, выполняемых ежедневно.

Функциональную активность нейтрофилов определяли по их способности восстанавливать НСТ в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. Тест проводили с использованием НСТ («Sigma», с молекулярным весом 817,6) в концентрации 2 мг на 1 мл фосфатно-солевого буфера (рН 7,2—7,4). Для стимуляции нейтрофилов использовали 0,05% раствор опсонизированного зимозана А («Sigma»). В качестве опсонина была использована сыворотка доноров IV группы. Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая натощак в пробирки, содержащие гепарин. Постановка реакции осуществлялась следующим образом: на два стекла наносили по 20 мкл суспензии лейкоцитов. Далее добавляли к лейкоцитам на первом стекле 20 мкл фосфатно-солевого буфера и 20 мкл раствора НСТ, к клеткам на втором стекле — 20 мкл опсонизированного зимозана (стандартный стимулятор) и 20 мкл раствора НСТ. Оба стекла инкубировали 20 мин при температуре 37 °С, после чего препараты высушивали на воздухе, фиксировали в 95% этаноле в течение 10 мин, опускали в 0,5% сафранин и быстро оттуда доставали. После промывания препаратов под струей проточной воды их высушивали на воздухе. Под световым микроскопом высчитывали процентное содержание нейтрофилов с голубой «вуалью» или синими вкраплениями, образуемыми диформазаном, на 100 лейкоцитов. По разнице между числом стимулированных диформазанопозитивных клеток и количеством спонтанных диформазанопозитивных клеток рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов — индекс стимуляции (ИС).

Полученные данные были обработаны по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel (2010). Для оценки статистической значимости различий средних величин в случаях двух выборок использовался t -критерий (критерий Стьюдента). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты исследования показателей НСТ-теста в зависимости от тяжести течения заболевания у больных ВП представлены в **таблице**.

Динамика показателей НСТ-теста (%) у больных ВП в зависимости от тяжести состояния до и после лечения (M±m)

Группа пациентов	ВП легкой степени тяжести		ВП средней степени тяжести		ВП тяжелой степени тяжести	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Здоровые	Спонтанный НСТ-тест (12,5±1,62)					
Основная группа	17,1±1,33*	12,3±1,3 ^{###}	27,6±1,5**	12,7±1,4 [#]	35,2±1,33**	14,8±1,2 [#]
Контрольная группа	16,9±1,2*	14,2±1,2 [#]	28±1,3**	26,4±1,2***	34±1,4**	23±1,3 ^{###}
Здоровые	Стимулированный НСТ-тест (63±2,1)					
Основная группа	88±2,17**	63,3±2,05 [#]	76±2,15**	64,5±2,05 [#]	51±1,3**	62,6±2,2 [#]
Контрольная группа	89,1±2,2**	70±2,02 [#]	75,4±2,1**	69,2±2,17 [#]	54±2,4*	58±2,03*
Здоровые	ИС (5,1±0,65)					
Основная группа	5,1±0,42	5,1±0,5	2,75±0,4***	5±0,47 ^{###}	1,44±0,3**	4,2±0,31 [#]
Контрольная группа	5,2±0,6	4,9±0,53	2,69±0,43***	2,62±0,25***	1,58±0,12**	2,52±0,32*

Примечание. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$, *** — $p < 0,01$ — по сравнению с группой здоровых людей; # — $p < 0,05$, # — $p < 0,001$, ### — $p < 0,01$ — различия до и после лечения в пределах одной группы.

Как видно из **таблицы**, у пациентов с легким течением ВП в основной и контрольной группах до лечения отмечались высокие показатели как спонтанного, так и стимулированного НСТ-теста, которые достоверно превышали показатели нормы. Полученные результаты совпадают с данными литературы [7, 8]. После лечения в контрольной группе наблюдалось снижение показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста, но они не достигли нормальных значений, что может говорить о неполном завершении патологического процесса к концу лечения. У пациентов основной группы после лечения отмечалось достоверное снижение до значений нормы спонтанного и стимулированного НСТ-теста с сохранившимся на нормальном уровне ИС, что, по нашему мнению, свидетельствует о положительном действии лазерного излучения на функциональную активность лейкоцитов и способствует адекватному ответу иммунной системы на воспалительный процесс в виде завершенности фагоцитоза.

По данным **таблицы** также видно, что у пациентов с ВП средней степени тяжести до лечения отмечались высокие показатели как спонтанного, так и стимулированного НСТ-теста в обеих группах, которые статистически достоверно превышали показатели здоровых людей. Однако ИС, указывающий на метаболический потенциал фагоцитирующих клеток, был достоверно снижен в исследуемых группах. Такие изменения свидетельствуют о снижении метаболического потенциала фагоцитов на фоне активного бактериального процесса в легких при ВП среднетяжелого течения.

После лечения нами получена разнонаправленная динамика показателей НСТ-теста и ИС. Так, у пациентов контрольной группы показатель спонтанного НСТ-теста снизился, что оказалось статистически незначимым и достоверно превышало значение нормы. Показатель стимулированного НСТ-теста, несмотря на достоверное снижение уровня,

нормы также не достиг, а ИС оказался ниже нормальных значений.

В основной группе пациентов, получавших процедуры ВЛОК, после лечения отмечалось статистически достоверное снижение спонтанного и стимулированного НСТ-теста, а ИС увеличился до нормальных значений.

Как видно из **таблицы**, пациенты с ВП тяжелой степени до лечения имели достоверно низкие показатели стимулированного НСТ-теста и ИС в основной и контрольной группах, тогда как показатель спонтанного НСТ-теста был достоверно повышен в обеих группах, что свидетельствует о низких резервных возможностях бактерицидных свойств нейтрофилов.

После лечения в контрольной группе наблюдалось незначительное повышение показателей стимулированного НСТ-теста и снижение показателей спонтанного НСТ-теста, не достигших нормальных значений. Показатель ИС недостоверно повысился до 2,52±0,32, что оказалось ниже нормы.

У пациентов основной группы после лечения выявлены достоверные изменения показателей тетразолиевой активности и ИС, которые достигли нормальных показателей.

Выводы

Таким образом, результаты нашего исследования показывают, что отсутствие достоверной динамики показателей тетразолиевой активности при традиционной медикаментозной терапии свидетельствует о недостаточной функциональной активности нейтрофилов, что способствует дальнейшему сохранению воспалительного процесса в ткани легкого, тогда как включение в комплексную терапию больных ВП ВЛОК сопровождается достоверной нормализацией бактерицидной активности нейтрофилов и функционального резерва фагоцитирующих клеток, что способствует

ет скорейшему завершению воспалительного процесса.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Н.Б., А.Г.
Сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста: А.Г.
Редактирование: Н.Б.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коваленко Е.И., Семенкова Г.Н., Черенкевич С.Н. Влияние пероксида водорода на способность нейтрофилов генерировать активные формы кислорода и хлора и секретировать миелопероксидазу in vitro. *Цитология*. 2007;49(10):837-847.
2. Галкин А.А., Демидова В.С. Роль адгезии в активации нейтрофилов и цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием. *Успехи современной биологии*. 2011;131(1):62-78.
3. Висмонт Ф.И. *Воспаление (патофизиологические аспекты): Учебно-методическое пособие*. Минск: БГМУ; 2006:48.
4. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований*. М.; 2005:542.
5. Бурдули Н.М., Пилюева Н.Г. Изменение состояния микроциркуляторного русла у больных внебольничной пневмонией и возможности их коррекции. *Владикавказский медико-биологический вестник*. 2007;7(13):218-221.
6. Гейниц А.В., Москвин С.В. Новые технологии внутривенного лазерного облучения крови: «ВЛОК+УФОК» и «ВЛОК-405». М.—Тверь: Триада; 2010.
7. Иванова З.О. *Состояние прооксидантной и антиоксидантной системы крови при пневмонии бактериальной и вирусно-бактериальной этиологии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2010:28.*
8. Мавзютова Г.А. *Этиопатогенетические механизмы иммунных нарушений при внебольничной пневмонии и их коррекция: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Уфа; 2010:47.*

Поступила 17.05.2015