

ДИНАМИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МЕДИАТОРОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ ПРИ ГНОЙНО-ДЕСТРУКТИВНОЙ ПНЕВМОНИИ

Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк

Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского МЗ Украины, г. Симферополь

DYNAMICS OF INFLAMMATORY MEDIATORS AND INDICES OF ANTIENDOTOXINAL IMMUNITY IN CHILDREN IN PURULENT-DESTRUCTIVE PNEUMONIA

L. F. Pritulo, Yu. A. Bisjuk

Несмотря на снижение летальности от пневмонии за последние 50 лет на 97%, в США и Европе ее выявляют с частотой 34 — 40 на 1000 детей, в России — 15 — 20 на 1000 детей. Смертность от пневмонии детей, по данным МЗ РФ, в 2001 г составила 116 ± 3 на 100 000 [1].

Воспаление при пневмонии у детей обуславливает значительное увеличение концентрации провоспалительных медиаторов с количественными и функциональными изменениями клеток иммунной системы [2, 3]. Определение концентрации цитокинов позволяет установить активацию или супрессию воспалительных процессов [4 — 6].

Именно ЭТ играет одну из ведущих ролей в формировании синдрома эндогенной интоксикации при транслокации микроорганизмов [7]. Он обладает высокой биологической активностью и относится к числу сильных экзогенных модуляторов иммунной реактивности организма. Гуморальные механизмы связывания ЭТ *E.coli* реализуются посредством естественных АТ к нему. Важную роль в утилизации ЭТ как непосредственно на слизистой оболочке, так и в системном кровотоке, осуществляют АТ к нему [8].

Гуморальными механизмами индукции антиэндоксинного иммунитета являются неспецифические, врожденные элементы LBP и sCD14. Его роль в отношении к ЭТ состоит в связывании мономеров от стенки грамотригативных микроорганизмов или скопления циркулирующего

Реферат

Обследованы 220 детей, у которых диагностирована гнойно-деструктивная пневмония (ГДП). Уровень провоспалительных медиаторов и показателей антиэндоксинного иммунитета определяли в сыворотке крови после госпитализации с использованием иммуноферментного анализа. Установлено, что при ГДП у детей увеличивается концентрация провоспалительных медиаторов — интерлейкинов (ИЛ—1 β , ИЛ—6), фактора некроза опухолей— α (ФНО— α), С—реактивного протеина (СРП), уменьшается титр антител (АТ) к эндотоксину (ЭТ) класса G, повышается уровень липополисахарид—связанного протеина (lipopolisaccharid—binding protein — LBP) и растворимой формы (solubl—s) CD14 рецептора (sCD14), независимо от тяжести состояния больных.

Ключевые слова: пневмония; антиэндоксинный иммунитет; провоспалительные медиаторы; дети.

Abstract

There were examined 220 children, in whom purulent—destructive pneumonia (PDP) was diagnosed. Level of anti—inflammatory mediators and indices of the antiendotoxine immunity was determined in the blood serum, using immunoassay analysis, after admittance to hospital. There was established, that in PDP in children the concentration of anti—inflammatory mediators interleucines (IL—1 β , IL—6) is enhanced, as well as of the tumor necrosis factor— α (TNF— α), C—reactive protein (CRP), while titre of antibodies to endotoxine class G lowers, and the level of lipopolisaccharid—binded protein (LBP) and soluble form of CD14 receptor (sCD14) is raised, not depending from the patient state severity.

Key words: pneumonia; antiendotoxin's immunity; anti—inflammatory mediators; children.

этого ЭТ в крови с последующим взаимодействием с CD14, которое способствует внутриклеточной активации [9].

Таким образом, изучение эндотоксин—опосредованной продукции провоспалительных медиаторов у детей при пневмонии позволит оценить выраженность воспалительного процесса, и может быть использовано в качестве дополнительного критерия для оценки тяжести состояния пациента.

Целью исследования было изучение продукции провоспалительных медиаторов в динамике и их связь с антиэндоксинным иммунитетом у детей при ГДП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для установления диагноза ГДП использовали протоколы диагностики и лечения в соответствии с приказом МЗ Украины (№ 18 от 13.01.05) и классификацией М. Р. Рокитцкого [10] для осложненных форм пневмонии [7]. Из 220 больных ГДП у 140 — диагностирована легочная форма, у 80 — легочно—плевральная. Возраст больных от 1 года до 14 лет.

В контрольную группу включены 110 условно здоровых детей того же возраста.

Концентрацию иммунных показателей определяли в сыворотке

крови в 1–е сутки после госпитализации пациентов.

Для определения содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ–1 β , ИЛ–6, ФНО– α) использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) с помощью тест–систем производства ООО "Протеиновый контур" (Санкт–Петербург, Россия). Содержание цитокинов выражали в пг/мл.

Содержание СРП в сыворотке крови определяли с помощью "сэндвич"–варианта тИФА с использованием системы биотин–стрептавидин для усиления сигнала. Источником АТ к СРП была коммерческая овечья антисыворотка к СРП человека производства ООО "Микрофлора" при МНИИ им. Г.Н. Габричевского (Россия). Содержание СРП выражали в мкг/мл.

Титр АТ к ЭТ классов А, М, G (ответственно анти–ЭТ–IgA, анти–ЭТ–IgM, анти–ЭТ–IgG) определяли методом тИФА [11], выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментной реакции.

Для определения уровня LBP и sCD14 использовали тест–системы "Hbt Human LBP ELISA Kit, Product Number: HK315 и Hbt Human sCD14 ELISA Kit, Product Number: HK320" производства "Nucult biotechnology" (Голландия). Оптическую плотность определяли с помощью анализатора "StatFax 2100" при длине волны 450 нм. Содержание LBP и sCD14 выражали в мкг/мл.

Все результаты обработаны с использованием статистических методов для параметрических и непараметрических критериев с помощью программы "MedStat" (серийный № MS0011) ДНПП ООО "Альфа" (Донецк).

Для проверки распределения на нормальность использовали χ^2 и критерий W (Шапиро – Уилка), сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием W–критерия Вилкоксона и сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента. Для множественного сравнения непараметрических данных использовали ранговый одно-

Таблица 1. Уровень провоспалительных цитокинов и СРП у детей при ГДП

Показатель	Величина показателя в группах ($\bar{x} \pm m$)		
	контрольной (n = 110)	при легочной форме (n = 140)	при легочно–плевральной форме (n = 80)
ИЛ-1в, пг/мл	16,36 \pm 0,75	53,79 \pm 1,69	59,18 \pm 2,76*
ИЛ-6, пг/мл	31,16 \pm 0,65	58,03 \pm 1,34	59,96 \pm 2,11*
ФНО-6, пг/мл	16,97 \pm 0,68	102,61 \pm 5,17	113,86 \pm 7,41*
СРП, мкг/мл	11,82 \pm 0,30	20,96 \pm 0,50	22,86 \pm 0,58*

Примечание. * –различия показателей достоверны по сравнению с таковыми в контрольной группе ($p < 0,01$).

Таблица 2. Показатели антиэндотоксинового иммунитета у детей при ГДП

Показатель	Величина показателя в группах ($\bar{x} \pm m$)		
	контрольной (n = 110)	при легочной форме (n = 140)	при легочно–плевральной форме (n = 80)
Анти–ЭТ–IgG, ед. опт. плотн.	0,290 \pm 0,003	0,177 \pm 0,004*	0,176 \pm 0,005*
Анти–ЭТ–IgM, ед. опт. плотн.	0,187 \pm 0,002	0,206 \pm 0,002*	0,215 \pm 0,003*
Анти–ЭТ–IgA, ед. опт. плотн.	0,156 \pm 0,003	0,125 \pm 0,002*	0,204 \pm 0,006* ^Д
LBP, мкг/мл	14,485 \pm 0,444	26,69 \pm 1,049*	24,925 \pm 1,149*
sCD14, мкг/мл	2,599 \pm 0,092	9,746 \pm 0,237*	8,244 \pm 0,270*

Примечание. Различия показателей достоверны по сравнению с таковыми: * – в контрольной группе; ^Д – при легочной форме ($p < 0,01$).

факторный анализ Крускала – Уоллиса и критерий Данна [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание провоспалительных цитокинов и СРП представлено в табл. 1.

Следовательно, содержание ИЛ–1 β , ИЛ–6, ФНО– α и СРП было достоверно больше ($p < 0,01$), чем в контроле, при этом, показатели при легочной и легочно–плевральной формах достоверно не различались.

Показатели антиэндотоксинового иммунитета представлены в табл. 2.

Уровень анти–ЭТ–IgG при легочной и легочно–плевральной формах был достоверно ниже ($p < 0,01$), чем в контроле. Титр анти–ЭТ–IgG достоверно не различался ($p > 0,05$) при легочной и легочно–плевральной формах. Титр анти–ЭТ–IgM был достоверно выше ($p < 0,01$), чем в контроле, и не различался ($p > 0,05$) при разных формах

ГДП. Титр анти–ЭТ–IgA был достоверно выше ($p < 0,01$) при легочно–плевральной форме ГДП по сравнению с таковым в контроле и при легочной форме, наиболее низкий титр анти–ЭТ–IgA отмечен при легочной форме ГДП.

При анализе неспецифических показателей LBP и sCD14 отмечен их значительно более высокий ($p < 0,01$) уровень, чем в контроле, при легочной и легочно–плевральной формах ГДП эти показатели достоверно не различались ($p > 0,05$).

Таким образом, анализ показателей антиэндотоксинового иммунитета свидетельствовал, что при ГДП у детей возникает дисбаланс в системе специфического (снижение титра анти–ЭТ–IgG) и неспецифического (повышение уровня LBP и sCD14) звена иммунитета.

У пациентов при острых инфекциях повышение уровня sCD14 коррелирует с увеличением летальности при бактериемии [12]. Результаты нашего исследования свидетельст-

вуют, что при ГДП у детей значительно повышается уровень sCD14 и LBP.

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы [13] о значительном увеличении продукции провоспалительных цитокинов, хотя по нашим данным, тяжесть состояния детей при ГДП не влияла на уровень провоспалительных медиаторов.

Результаты нашего исследования указывают, что при оценке возможности возникновения сепсиса у детей при ГДП на основании изучения в динамике продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ—1 β , ИЛ—6, ФНО— α), СРП и состояния антиэндотоксинового иммунитета, выраженность воспалительного процесса не зависит от тяжести состояния больных.

Таким образом, при ГДП у детей увеличивается концентрация провоспалительных медиаторов (ИЛ—1 β , ИЛ—6, ФНО— α , СРП), снижается титр АТ к ЭТ класса G, а также повышается уровень LBP и sCD14, при этом выраженность воспаления не зависит от тяжести состояния пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Таточенко В. К. Пневмонии у детей: этиология и лечение / В. К. Таточенко // Лечащий врач. — 2002. — № 10. — С. 56 — 60.
2. Иммунологический статус детей с гнойно—септическими заболеваниями на этапе госпитализации / Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк, К. Н. Джансыз [и др.] // Клін. анатомія та оператив. хірургія. — 2012. — Т. 11, № 2. — С. 17 — 20.
3. Состояние гуморального иммунитета у детей с гнойно—септическими заболеваниями на этапе госпитализации / Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк, Т. Г. Филоненко, О. В. Васильев // Таврич. мед.—биол. вестн. — 2012. — Т. 15, № 2, ч. 2 (58). — С. 174 — 176.
4. Козлов В. К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса. Возможности диагностики / В. К. Козлов // Цитокины и воспаление. — 2006. — Т. 5, № 2.— С. 15 — 29.
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико—биологических исследованиях / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 319 с.
6. Останин А. А. Оценка цитокинового профиля у больных с тяжелым сепсисом методом проточной флюорометрии (Bio—Plex—анализа) / А. А. Останин, О. Ю. Леплина, Е. Я. Шевела // Цитокины и воспаление — 2004. — Т.3, № 1. — С. 20 — 27.
7. Антиэндотоксиновый иммунитет у детей с гнойно—септическими заболеваниями на этапе госпитализации / Д. Ю. Кривченя, Л. Ф. Притуло, Ю. А. Бисюк [и др.] // Здоровье ребенка. — 2012. — №3 (38). — С. 93 — 97.
8. Уровни естественных антител к липополисахаридам энтеробактерий у постоянных доноров республики Крым / А. И. Гордиенко, А. А. Бакова, Н. В. Химич, В. А. Белоглазов // Імунологія та алергологія. — 2003. — № 4. — С. 31 — 36.
9. Weiss J. Bactericidal/permeability—increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide—binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram—negative bacteria / J. Weiss // Biochem. Soc. Trans. — 2003. — Vol. 31, Pt. 4. — P.785 — 790.
10. Рокицкий М. Р. Хирургические заболевания легких у детей: руководство / М. Р. Рокицкий. — Л.: Медицина, 1988. — 288 с.
11. Пат. 70193 А Україна, МПК 7 А61К31/01. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій / А. І. Гордієнко, В. О. Білоглазов (Україна). — Заявл. 29.12. 03; опубл.15.09.04. Бюл. № 9.
12. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram—negative shock / R. Landmann, W. Zimmerli, S. Sansano [et al.] // J. Inf. Dis. — 1995. — Vol. 171. — P. 639 — 644.
13. Устьянцева И. М. Влияние факторов воспаления на течение внебольничной пневмонии/ И. М. Устьянцева, М. А. Скопинцев, О. В. Петухова // Вестн. Кузбас. науч. центра, посвящ. 60—летию Рос. академии мед. наук. — 2005. — № 1. — С. 111 — 118.

