

УДК: 616.24-002-039.3]-053.3

ПОКАЗНИКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ОБ'ЄКТИВІЗАЦІЇ ОЦІНКИ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

Павлишин Г. А. *, Саранук І. М.

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського,
майдан Волі, 1, 46001, Тернопіль, Україна
(отримана 12.03.2013, опублікована 15.04.2013)

Метою нашої роботи було вивчення апоптичної активності та некрозу нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові, як показників об'єктивізації клінічного перебігу негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку. Обстежено 73 дітей першого року життя, які знаходились на стаціонарному лікуванні з приводу негоспітальної пневмонії. Встановлено, що у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією інтенсивність процесів апоптозу зростає, при чому з наростанням тяжкості захворювання апоптична активність – знижується. Некротичні процеси виявляють пряму пропорційну залежність з тяжкістю даної патології, що може служити для ефективної об'єктивізації клінічного перебігу негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку та для прогнозування тяжкості захворювання у цієї категорії пацієнтів.

Ключові слова: негоспітальна пневмонія, діти раннього віку, апоптична активність, некроз, нейтрофіли.

* galina_pavlishin@mail.ru

Вступ.

Не дивлячись на успіхи сучасної медицини, пневмонія залишається серйозною проблемою у світі та в Україні, і особливо актуальна для дітей раннього віку [1, 2]. Епідеміологічні дослідження підтверджують вікову залежність частоти поширення пневмонії у дитячому віці – 20 випадків на 1000 дітей першого року життя, 34-40 на 1000 дітей шкільного віку, у шкільному та підлітковому віці – частота становить 10 випадків на 1000 дітей [3, 4].

Пневмонія у дітей першого року життя є однією з основних причин госпіталізації. Серед усіх госпіталізованих з пневмонією новонароджені складають до 1 %, діти віком 1-11 місяців – 29 %, 1-5 років – 50 %, діти старші 5 років складають 20 % хворих [3].

Патогенетичні порушення при пневмонії тісно пов'язані з особливостями нейтрофільних гранулоцитів – ефекторів та модуляторів запального процесу, які здійснюють фагоцитоз, генерацію різних субстанцій реактивного кисню і, водночас, зазнають апоптозу. Апоптоз клітин імунної системи – є важливим фізіологічним процесом, який регулює життєвий цикл, забезпечує клітинний гомеостаз, протиінфекційний захист, однак, може визначати характер патологічного процесу [5, 6, 7].

Незважаючи на численні досягнення у вивченні запрограмованої клітинної загибелі, залишаються не до кінця з'ясованими питання щодо апоптичної активності в педіатричній практиці, зокрема, у дітей раннього віку із захворюваннями нижніх дихальних шляхів, її вікові й статеві особливості.

Мета роботи – вивчення апоптичної активності та некрозу нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові, як показників об'єктивізації клінічного перебігу негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку.

Матеріали та методи дослідження.

Проведено обстеження 73 дітей першого року життя, які перебували на стаціонарному лікуванні в Тернопільській ОДКЛ з діагнозом негоспітальної пневмонії. На момент госпіталізації усім немовлятам проведено комплексне клінічне та лабораторно-інструментальне дослідження відповідно до «Протоколу лікування дітей з пневмонією» [8]. За ступенем тяжкості пневмонії всі пацієнти розподілені на дві групи. Критерієм розподілу служили вираженість клінічних та лабораторно-функціональних проявів захворювання, які оцінювали за індексом та шкалою тяжкості пневмонії [9]. Першу групу (I гр.) склали 44 ((60,3±5,8)%) дитини з середньо-тяжкою пневмонією, що відповідає I-II ступеню шкали тяжкості, другу (II гр.) – 29 ((39,7±5,8)%) дітей з тяжким перебігом пневмонії, відповідно III-IV ступеня. Групу контролю склали 23 практично здорових дитини того ж віку.

У периферичній крові визначали відсотковий вміст нейтрофілів, що перебували в стані апоптозу та некрозу, методом лазерної проточної цитометрії з використанням цитофлуорометра Epics XL («Beckman Coulter», США). Результат виражали в числі (%) клітин, що вступили в стадію апоптозу та некрозу [10]. Інтенсивність апоптозу за активністю каспази-3 визначали спектрофотометрично у нейтрофільних гранулоцитах крові [11].

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичних пакетів „EXCELL” та „STATISTICA 7.0.”

Результати досліджень та їх обговорення.

Розподіл хворих за віком та статтю представлено в таблиці 1. У I групі хлопчиків – 21 (47,7±7,6%), дівчаток – 23 (52,3±7,6%); у II групі переважали хлопчики: 19 (65,5±8,9%) та 10 (34,5±8,9%) відповідно.

Аналіз за віком показав, що пневмонія середнього ступеня тяжкості частіше мала місце у немовлят від 1 до 6 місяців, в той час, як важкий перебіг достовірно частіше спостерігався в періоді новонародженості (рис.1).

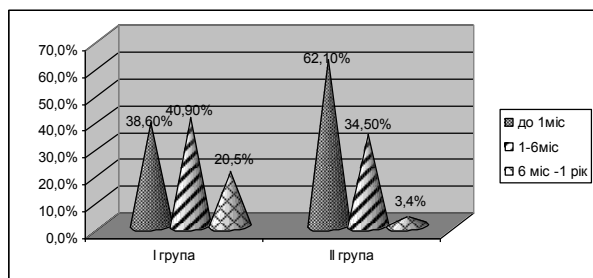


Рис. 1 - Розподіл дітей за віком залежно від тяжкості захворювання

Таким чином, важкий перебіг захворювання переважав у пацієнтів чоловічої статі, при чому, чим менший вік дитини, тим більший ризик важкого перебігу пневмонії, що узгоджується з даними літератури про значну питому вагу хлопчиків (1,25-2:1) серед хворих пневмонією дітей першого року життя [9, 12].

Вивчення процесів апоптозу свідчить про зростання відносної кількості апоптичних нейтрофілів (%НА) у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією щодо здорових немовлят (15,36 (12,43; 17,97)% проти 7,12 (6,27; 8,53)%, $p < 0,001$). Аналіз інтенсивності апоптозу залежно від тяжкості захворювання підтвердив наступні відмінності: у дітей I групи - підвищення інтенсивності апоптозу нейтрофілів – 17,87 (16,50; 18,86) % щодо здорових 7,12 (6,27; 8,53) %, $p_{к-1} < 0,001$; у пацієнтів II групи – інтенсивність апоптозу (11,43 (10,60; 13,61) %) достовірно перевищує групу контролю ($p_{к-2} < 0,001$), однак відрізняється зниженням активності процесів апоптозу від показників I групи ($p_{1-2} < 0,001$) (рис.2).

Інтенсивне зростання апоптичної активності нейтрофілів при пневмонії у дітей раннього віку з середньо-тяжким перебігом підтверджує захисний характер цього процесу, спрямований на елімінацію збудника, надлишку активних нейтрофілів та завершення запальних змін у тканинах. Зменшення кількості нейтрофілів, які вступили в стадію апоптозу при тяжкому перебігу захворювання, може свідчити про зниження їх апоптичної активності, тим самим, підтримуючи нейтрофільне запалення [13].

Під час попарного порівняння між групами визначено достовірну відмінність ($p_{1-2} < 0,001$). Таким чином, найвище відхилення показника %НА встановлено в дітей I групи ($t=22,78$), а друге рангове місце посідає рівень %НА в хворих II групи ($t=9,42$) (рис. 3).

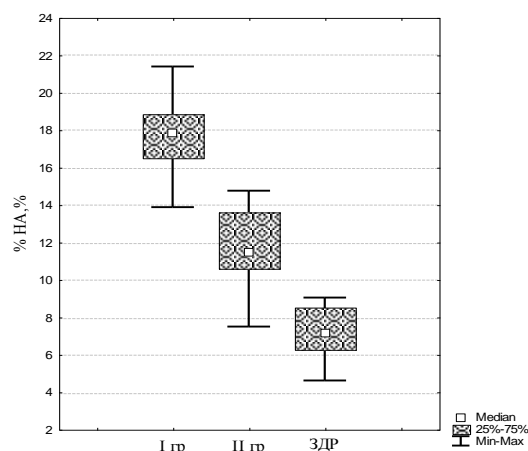


Рис. 2 - Рівень % НА у сироватці крові дітей з негоспітальною пневмонією та групи контролю.

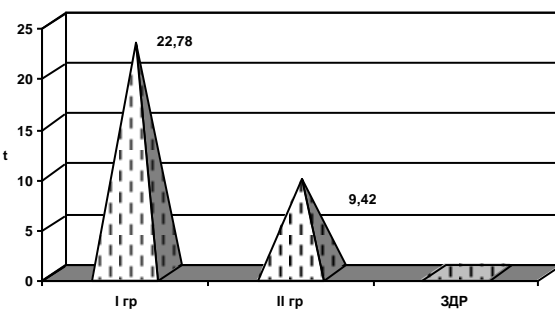


Рис. 3 - Рейтингова оцінка ступеня відхилення від нормативу рівня % НА у сироватці крові дітей з негоспітальною пневмонією.

Аналогічна тенденція спостерігається при дослідженні активності каспази-3 (АК-3) – однієї з ефекторних каспаз, яка відіграє основну роль в активації програмованої загибелі клітин. У дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією відмічається підвищена активність даної протеази (24,62; (18,21; 28,15) пмоль/мг білка) порівняно з контрольною групою (3,47 (3,05; 3,96) пмоль/мг білка), (рис. 4). Водночас, спостерігається залежність АК-3 стосовно тяжкості захворювання, зокрема, тенденція до зниження її активності при тяжкому перебігу пневмонії (17,15 (15,86; 18,75) пмоль/мг білка) в порівнянні з показником I групи (27,81 (24,99; 30,66) пмоль/мг білка).

При послідовному порівнянні зазначених показників у дітей I та II груп з контролем виявлено достовірне збільшення АК-3 ($p_{к-1} < 0,001$, $p_{к-2} < 0,001$, відповідно). Перше рангове місце за ступенем відхилення від нормативних показників посідає рівень АК-3 у дітей I групи ($t=31,53$), а друге рангове місце – АК-3 у II групі ($t=27,50$)

(рис.5). Під час попарного порівняння між групами визначено достовірну відмінність ($p_{1-2} < 0,001$).

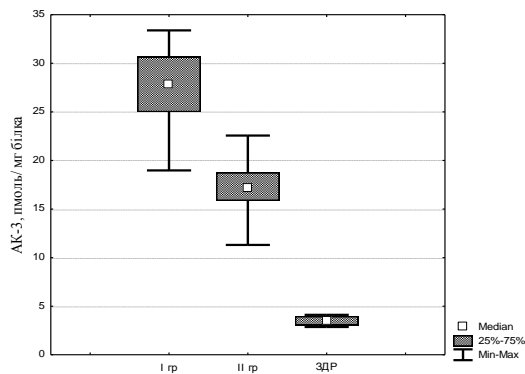


Рис. 4 - Рівень активності каспази-3 у спостережуваних групах

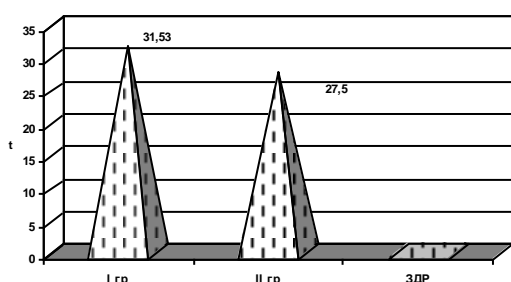


Рис. 5 - Рейтингова оцінка ступеня відхилення від нормативу рівня АК-3 у групах спостереження

На відміну від апоптозу, некроз – це патологічна форма загибелі клітин, що теж має місце при запальних процесях. Рівень некрозу нейтрофілів (%НН) у дітей з пневмонією корелює із тяжкістю захворювання (рис. 6). У дітей з негоспітальною пневмонією зростає відсоток як апоптично, так і некротично змінених нейтрофілів, однак зі зростанням тяжкості захворювання некроз імунокомпетентних клітин статистично значуще збільшується ($p_{1-2} < 0,001$), зокрема, у дітей I групи становить – 0,96 (0,75; 1,12)%, в II групі – 1,93 (1,73; 2,75)%, і перевищує контроль – 0,27 (0,18; 0,32) % у 3,55 та 7,14 разів відповідно ($p_{к-1} < 0,001$, $p_{к-2} < 0,001$).

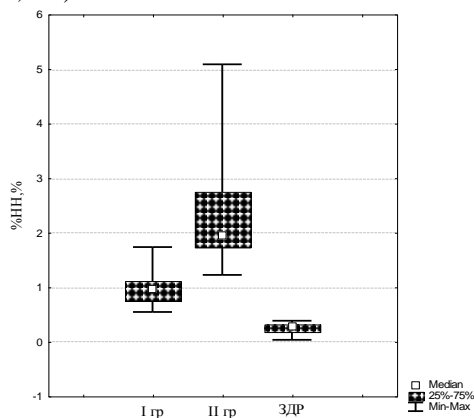


Рис. 6 - Рівень %НН у сироватці крові спостережуваних дітей

Така динаміка показників некрозу нейтрофілів свідчить про посилення запальних процесів через порушення цілісності клітинних мембрани, вивільнення гістотоксичного вмісту нейтрофілів у позаклітинний простір [14], а тому може служити як прогностичний маркер тяжкості пневмонії.

Висновки. Таким чином, у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією показники апоптичної активності та некрозу нейтрофільних гранулоцитів достовірно відрізняються від здорових дітей, водночас, корелюють з характером клінічного перебігу та тяжкістю захворювання. Інтенсивність процесів апоптозу зростає у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією, при чому з наростанням тяжкості захворювання апоптична активність – знижується. Некротичні процеси виявляють прямо пропорційну залежність з тяжкістю захворювання у дітей раннього віку, що може служити для ефективної об'єктивізації клінічного перебігу негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку та для прогнозування тяжкості захворювання у цієї категорії пацієнтів.

Перспектива досліджень. Вивчення вікової та статевої залежності апоптичної активності та некрозу нейтрофільних гранулоцитів у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією, дозволить встановити гендерні співвідношення та вікові особливості порушень механізмів ініціації та реалізації програми загибелі клітин, що сприятиме підвищенню ефективності об'єктивної оцінки клінічного перебігу та покращуватиме прогнозування несприятливого наслідку захворювання.

Список использованной литературы:

1. Моїсеєнко Р. О. Аналіз захворюваності дітей першого року життя в Україні / Р. О. Моїсеєнко // Перинатологія и педиатрія. – 2010. – № 1 (41). – С. 6–9.
2. Шостакович-Корецька Л. Р. Пневмонія у дітей (разбор клинического случая) / Л. Р. Шостакович-Корецька // Здоров'я України. – 2007. – № 20. – С. 41–44.
3. Майданник В. Г. Гостра пневмонія у дітей: Клінічні варіанти перебігу, діагностика та лікування [Текст] : навч. посіб. / В. Г. Майданник, О. І. Сміян, Т. П. Бинда. - Суми : СумДУ, 2009. - 156 с.
4. Антипкін Ю. Г. Принципи діагностики та лікування негоспітальних пневмоній у дітей / Ю. Г. Антипкін, В. Ф. Лапшин, Т. Р. Уманець // Здоров'я України. — 2008. — № 24/1. — С. 11—13.
5. Вьяльцева Ю. В. Возможные механизмы реализации апоптоза у ВИЧ-инфицированных детей / Ю. В. Вьяльцева, И. В. Богдельников // Современная педиатрия. – 2008. – № 4 (21). – С. 140–141.
6. Neutrophil apoptosis, activation and anti-inflammatory cytokine response in

- granulocyte colony-stimulating factor - treated patients with community-acquired pneumonia / D. Droemann, F. Hansen, S. P. Aries [et al.] // *Respiration*. – 2006. – Vol. 73, N. 3. – P. 340–346.
7. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease / S. Fox, A. E. Leitch, R. Duffin [et al.] // *Journal of Innate Immunity*. – 2010. – Vol. 2, N. 3. – P. 216 – 227.
 8. Наказ МОЗ України від 13.01.05 № 18 Про затвердження Протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю «Дитяча пульмонологія».
 9. Майданник В. Г. Внебольничная пневмония у детей: какой должна быть тактика педиатра? / В. Г. Майданник // *Здоровья Украины*. – 2009. – № 24 (1). – С. 19 – 20.
 10. Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure / M. Engeland, L. J. W. Nieland, F. C. Ramaekers [et al.] // *Journal of Cytometry*. – 1998. – Vol. 31, N. 1. – P. 1–9.
 11. Increased platelet phosphatidylserine exposure and caspase activation in chronic uremia / M. Bonomini, S. Dottori, A. Amoroso [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2004. – Vol. 2, N. 8. – P. 1–8.
 12. Тяжелые внебольничные пневмонии у детей / Г. А. Самсыгина, Т. А. Дудина, А. Г. Талалаев, М. А. Корнюшин // *Педиатрия*. – 2005. – № 4. – С. 87 – 94.
 13. Enhanced PMN response in chronic bronchitis and community-acquired pneumonia / A. Strassburg, D. Droemann, G. van Zandbergen, H. Kothe [et al.] // *European Respiratory Journal*. – 2004. – Vol. 24, N. 5. – P. 772 – 778.
 14. Клеточные факторы местной защиты при внебольничной пневмонии / Н. М. Кондрашова, Н. Г. Плехова, Д. В. Заворуева [и др.] // *Цитология*. – 2010. – Т. 52, № 7. – С. 588 – 596.

Табл. 1 - Розподіл хворих на негоспітальну пневмонію за віком і статтю

Групи обстежених		До 1 міс.		1 - 6 міс.		6 міс.- до року		Усього	
		N	p%±s _{p%}	n	p%±s _{p%}	n	p%±s _{p%}	n	p%±s _{p%}
I гр.	Хлопчики	7	41,2±12,3	9	50,0±12,1	5	55,6±17,6	21	47,7±7,6
	Дівчатка	10	58,8±12,3	9	50,0±12,1	4	44,4±17,6	23	52,3±7,6
	Усього	17	38,6±7,4*	18	40,9±7,5*	9	20,5±6,2*	44	
	K		0,7		1,0		1,25		0,91
II гр.	Хлопчики	10	55,6±12,1	9	90,0±10,0	0	0,0±0,5	19	65,5±8,9
	Дівчатка	8	44,4±12,1	1	10,0±10,0	1	100,0±0,5	10	34,5±8,9
	Усього	18	62,1±9,2*	10	34,5±8,9*	1	3,4±3,4*	29	
	K		1,25		9,0				1,9

Примітки:

$$1. K = \frac{\text{питома вага хлопчиків}}{\text{питома вага дівчаток}};$$

2. n – кількість спостережень; p% - вибіркова частка у відсотках; s_{p%} - статистична похибка вибіркової частка, що виражена у відсотках; * - від кількості хворих у певній групі.

OBJECTIFICATION'S PERFORMANCE INDICATORS OF CLINICAL COURSE ASSESSMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN INFANTS

Pavlishin H. A., Sarapuk I. M.

I.Ya.Horbachevsky State Medical University, m. Voli, 1, 46001, Ternopil, Ukraine

The aim of our study was to investigate the apoptotic activity and necrosis of neutrophils of peripheral blood as objectification indicators of clinical course of community-acquired pneumonia in infants. There were examined 73 infants with community-acquired pneumonia. In infants with community-acquired pneumonia intensity of apoptosis increases, with the increase of disease severity apoptotic activity - decreases. Necrotic processes exhibit a positive relationship with the severity of this disease, which may serve for effective objectification of clinical course of community-acquired pneumonia in infants and to predict the severity of the disease in this category of patients.

Keywords: community acquired pneumonia, infants, apoptotic activity, necrosis, neutrophils

**ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБЪЕКТИВИЗАЦИИ ОЦЕНКИ
КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ НЕГОСПИТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА**

Павлишин Г. А., Сарапук И. М.

*Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского,
майдан Воли, 1, 46001, Тернополь, Украина*

Целью нашей работы было изучение апоптической активности и некроза нейтрофилов периферической крови, как показателей объективизации клинического течения негоспитальной пневмонии у детей раннего возраста. Обследовано 73 детей первого года жизни, находящихся на стационарном лечении по поводу негоспитальной пневмонии. Установлено, что у детей раннего возраста с негоспитальной пневмонией интенсивность процессов апоптоза растет, причем с нарастанием тяжести заболевания апоптическая активность - снижается. Некротические процессы проявляют прямо пропорциональную зависимость с тяжестью данной патологии, что может служить для эффективной объективизации клинического течения негоспитальной пневмонии у детей раннего возраста и для прогнозирования тяжести заболевания у этой категории пациентов.

Ключевые слова: негоспитальная пневмония, дети раннего возраста, апоптическая активность, некроз, нейтрофилы