

©Л.І. Добровольська

**ОСОБЛИВОСТІ СПЕЦИФІЧНОГО І НЕСПЕЦИФІЧНОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ У ДІТЕЙ***Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського*

ОСОБЛИВОСТІ СПЕЦИФІЧНОГО І НЕСПЕЦИФІЧНОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ У ДІТЕЙ. У статті наведено результати імунологічного обстеження 65 дітей з хронічною гастродуоденальною патологією, асоційованою і не асоційованою з *H.pylori*. Проведена оцінка показників клітинної, гуморальної ланок імунітету, а також рівень прозапальних цитокінів у пацієнтів з хронічною гастродуоденальною патологією в порівнянні з контрольною групою здорових дітей. Виділено особливості рівня інтерлейкінів в залежності від наявності чи відсутності інфекційного агента (*H.pylori*).

ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ. В статье приведены результаты иммунологического обследования 65 детей с хронической гастродуоденальной патологией, ассоциированной и не ассоциированной с *H.pylori*. Проведена оценка показателей клеточного, гуморального звеньев иммунитета, а также уровень провоспалительных цитокинов у пациентов с хронической гастродуоденальной патологией по сравнению с контрольной группой здоровых детей. Выделены особенности уровня интерлейкинов в зависимости от наличия или отсутствия инфекционного агента (*H.pylori*).

THE FEATURES OF SPECIFIC AND NONSPECIFIC PROTECTION OF THE NASAL MUCOSA IN CHILDREN WITH CHRONIC GASTRODUODENAL PATHOLOGY. The article shows results of immunological examination of 65 children with chronic gastroduodenal pathology associated and not associated with *H.pylori*. The estimation of parameters of cellular, humoral immunity, and the level of proinflammatory cytokines in patients with chronic gastroduodenal pathology in comparison with a control group of healthy children was held. The peculiarities of the interleukin level of depending on the presence or absence of an infectious agent (*H.pylori*) was allocated.

Ключові слова: хронічна гастродуоденальна патологія, імунологічні особливості, діти.

Ключевые слова: хроническая гастродуоденальной патология, иммунологические особенности, дети.

Key words: chronic gastroduodenal pathology, immunological features, children.

ВСТУП. Вже декілька років поспіль поширеність захворювань органів травлення займають друге місце в структурі захворюваності і невпинно зростає. Частота діагностування даної патології у дітей дошкільного віку від 81,6 на 1000 дитячого населення, у віці 7-15 років – 100,0-130, 8 та 141,0 – у підлітків [1]. З огляду на це, захворювання гастродуоденальної зони є серйозною проблемою педіатрії.

Відомо, що одне з провідних місць у формуванні запальних захворювань шлунка і дванадцятипалої кишки має порушення захисної функції шлунково-кишкового тракту. Система захисту слизової оболонки гастродуоденальної зони складається з трьох рівнів: хімічного, представленого слизово-бікарбонатним буфером; клітинного, утвореного шаром покривного епітелію; сполучнотканинний рівень, що визначає регуляцію, трофіку, контроль кінетики покривного епітелію, реакції неспецифічного і специфічного імунного захисту організму [2]. До неспецифічних факторів захисту слід віднести природні кіллери та фагоцити, які представлені поліморфноядерними нейтрофілами, моноцитами крові й макрофагами тканин, зокрема сполучної тканини. Саме останніми синтезуються цитокіни та медіатори запалення, що модулюють проліферацію, міграцію і диференціювання епітелію та фібробластів, проникність ендотелію і ремоделювання матриксу сполучної тканини [3, 4].

Першочергове значення у формуванні запальних захворювань гастродуоденальної ділянки на сьогодні

небезпідставно надається *H.pylori*. За даними спостережень [5, 6, 7], у дітей з хронічною гастродуоденальною патологією, асоційованою з *H.pylori* відмічається порушення клітинної, гуморальної та фагоцитарної ланок імунної системи з розвитком вторинної імунної недостатності. Доведено, не тільки пряму дію *H.pylori* на слизову оболонку, а й ушкоджуючий ефект активованих нейтрофілів та лімфоцитів [8, 9]. Запалення слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки ініціює каскад специфічних імунних відповідей клітинами імунної, кровотворної, нервової та ендокринної систем, взаємодію яких забезпечують саме цитокіни – медіатори імунної системи [4]. Цитокіни складають велику групу пептидів з гормоноподібними властивостями. Інтерлейкіни є представниками однієї із багатьох груп цитокінів, які регулюють диференціювання та функціональну активність Т- і В-лімфоцитів. За характером впливу на запальні реакції цитокіни поділяються на прозапальні та антизапальні. Так, прозапальні цитокіни обумовлюють виникнення чи посилення запальної реакції [3, 4], що може впливати на активність запального процесу слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки.

Метою нашого дослідження було виявити особливості і діагностичне значення клітинного та гуморального імунітету а також цитокінового профілю сироватки крові у дітей з хронічною гастродуоденальною патологією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. У клінічному обстеженні взяли участь 65 дітей, віком від 7 до 17 років, із хро-

нічною гастродуоденальною патологією, які знаходилися на стаціонарному лікуванні у спеціалізованому відділенні Тернопільської обласної дитячої клінічної лікарні, а контрольну групу склали 20 дітей, у яких відсутня хронічна патологія.

Хворі діти були обстежені в період загострення. При постановці діагнозу керувалися наказом МОЗ України №438 від 26.05.2010 р. «Про затвердження протоколів діагностики та лікування захворювань органів травлення».

Усім пацієнтам поряд із загальноприйнятими методами обстеження проводилися імунологічні дослідження.

Для визначення кількості Т- і В-лімфоцитів, субпопуляційного складу Т-клітин використовували моноклональні антитіла класів CD3, CD4, CD8, CD16, CD22 (виробництво НВЛ «Гранум» м. Харків).

Вміст сироваткових імуноглобулінів А, М, G визначали методом радіальної імунодифузії за С. Mancini.

Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові досліджували методом преципітації.

Визначення вмісту інтерлейкіну-6 у сироватці крові проводилося за допомогою надосадової рідини методом твердофазного імуноферментного аналізу (виробництво ТОВ «Укр-мед-Дон»). Для визначення концентрації інтерферону 2 і 8 в сироватці крові використовувався твердофазний варіант імуноферментного аналізу (ЗАТ «Вектор-Бест»).

Статистична обробка даних проводилася з використанням пакету прикладних програм (MS Excel, SPSS).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

Всі обстежені були поділені на дві групи: I група це діти з хронічним гастродуоденітом, асоційованим з *H.pylori*, що склали 25 (38,46%) чоловік; II – пацієнти з хронічною гастродуоденальною патологією не асоційованою з *H.pylori*, до якої ввійшло 40 (61,54%) дітей. Групу контролю склали діти без будь-якої хронічної патології. За статтю у I групі було 14 (56,00%) хлопчиків та 11 (44,00%) дівчаток; у II групі – 18 (45,00%) і 22 (55,00%) відповідно (рис. 1).

В I групі спостереження відмічається переважання хлопців (56,00%), а II група – дівчат (55,00%), проте ця різниця не є достовірною.

Досліджуючи клітинну ланку імунітету виявлені деякі зміни Т- і В- ланок (Таб.1).

У результаті проведених імунологічних досліджень виявлено помірну активацію Т-клітинної ланки імунітету. У I групі загальні Т-лімфоцити склали 45,36 ± 4,38%, що достовірно більше ніж показники CD3 у обстежуваних контрольної групи – 42 ± 3,95% (t=2,46; p=0,017).

При аналізі вмісту імунорегуляторних клітин у крові дітей виявлено зміни кількості та співвідношення CD4 та CD8. У дітей з хронічним гастродуоденітом асоційованим і не асоційованим з *H.pylori* кількість Т-хелперів знаходиться практично на одному рівні – 30,52 ± 2,36% та 30,20 ± 2,08% відповідно. Показники Т-супресорів у крові обстежених I і II груп достовірно вищі в порівнянні з CD8 в сироватці крові дітей контрольної групи, що склали 14,28 ± 1,77% (p<0,01), 14,43 ± 2,23% і 12,0 ± 1,98% відповідно (p< 0,001).

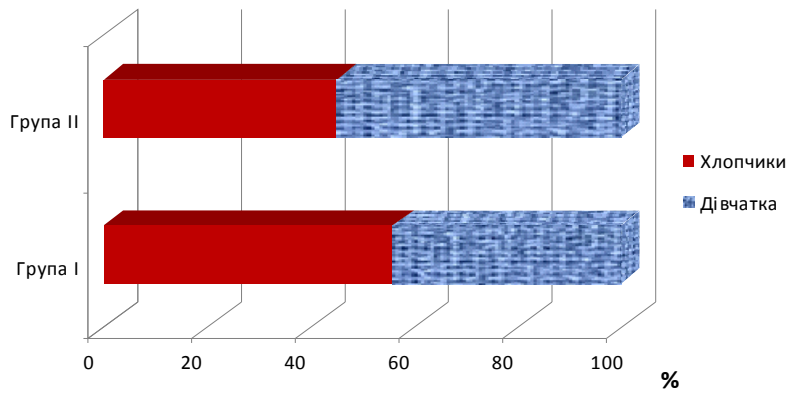


Рис 1. Розподіл хворих за статтю

Таблиця 1. Клітинний імунітет у обстежених дітей з хронічною гастродуоденальною патологією

Показники	I група (n=25)			II група (n=40)			Контрольна група (n=20)		
	M±m	Me	Mo	M±m	Me	Mo	M±m	Me	Mo
CD3	45,36 ± 4,38%*	46	41	43,93 ± 7,56%	44,5	42	42 ± 3,95%	42	39
CD4	30,52 ± 2,36%	30	29	30,20 ± 2,08%	30	29	30,0 ± 2,43%	29	28
CD8	14,28 ± 1,77%**	14	14	14,43 ± 2,23%***	14,5	15	12,0 ± 1,98%	12	15
CD22	17,72 ± 1,45%***	18	16	18,0 ± 2,19%**	18	18	20,0 ± 1,21%	19,5	19
CD16	12,36 ± 1,25%*	12	12	12,12 ± 1,51%*	12	12	11,0 ± 2,33%	10,5	10
IPI	2,17 ± 0,27**	2,13	2,42	2,14 ± 0,27***	2,07	2	2,43 ± 0,31	2,42	2,8

Примітки: * - різниця між аналогічними показниками I, II груп в порівнянні з контрольною статистично достовірна (p<0,05);

** - різниця між аналогічними показниками I, II груп в порівнянні з контрольною статистично достовірна (p<0,01),

*** - різниця між аналогічними показниками I, II груп в порівнянні з контрольною статистично достовірна (p< 0,001).

Зміни кількості клітин з фенотипами CD4 і CD8 призвели до достовірного зниження імунорегуляторного індексу (ІРІ) в обох обстежуваних групах в порівнянні з контрольною. Вони склали $2,17 \pm 0,24$ ($t=-2,97$; $p=0,004$), $2,14 \pm 0,27$ ($t=-3,34$; $p=0,0014$) і $2,43 \pm 0,31$ відповідно.

Аналіз вмісту клітин з фенотипом CD22 (В-лімфоцитів) виявив достовірно нижчі показники І і II груп в порівнянні з контрольною. В обстежуваних I групи такі склали $17,72 \pm 1,45\%$, в II – $18,00 \pm 2,19\%$ і в контрольній – $20,00 \pm 1,21\%$.

Щодо натуральних кілерів, то вони характеризувалися достовірно більшим рівнем в крові обох груп,

ніж аналогічний показник дітей контрольної групи ($p<0,05$).

Для характеристики гуморальної ланки імунітету проведено аналіз показників імуноглобулінів а також циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові обстежених дітей (Таб. 2).

В групах спостереження відмічено недостовірне зростання Іg М, який відображає гостроту запального процесу.

Концентрація ЦІК у дітей з хронічною гастродуоденальною патологією була достовірно підвищеною у дітей обох груп в порівнянні з контрольною в 1,7 рази.

Нами були визначені показники ІЛ 6, ІЛ 2 та ІЛ 8 (Таб.3).

Таблиця 2. Структура гуморальної ланки імунітету обстежуваних дітей

Показники	I група (n=25)			II група (n=40)			Контрольна група (n=20)		
	M±m г/л	Me	Mo	M±m г/л	Me	Mo	M±m г/л	Me	Mo
Ig A	$2,13 \pm 0,83$	2,0	2,9	$2,52 \pm 1,66$	2,55	2,9	$2,44 \pm 0,37$	2,4	2,2
Ig M	$3,06 \pm 0,93$	2,9	2,9	$3,18 \pm 0,86$	3,05	4	$2,86 \pm 0,43$	2,95	3
Ig G	$12,36 \pm 1,07$	12,5	11,6	$12,23 \pm 1,58$	12	12	$12,85 \pm 0,85$	12,7	12
ЦІК	$165,52 \pm 64,27^*$	158	125	$163,90 \pm 45,79^\circ$	161,5	183	$96,32 \pm 19,36$	92	102

Примітки: * - різниця між аналогічними показниками у I групі та у контрольній групі статистично достовірна ($p<0,05$);
 $^\circ$ - різниця між аналогічними показниками у II групі та у контрольній групі статистично достовірна ($p<0,05$).

Таблиця 3. Вміст прозапальних цитокінів в сироватці крові обстежених хворих

Показники	I група (n=25)			II група (n=40)			Контрольна група (n=20)		
	M	Me	Mo	M	Me	Mo	M	Me	Mo
ІЛ 6	$67,06^*$	41,20	0	$34,63^\circ$	32,15	24,80	60,43	64,10	0
ІЛ 8	$42,55$	18,30	12,8	$25,63^\circ$	15,45	14,40	78,10	81,70	0
ІЛ 2	$10,76^\circ$	11,40	12,5	12,88	11,50	3,70	15,22	15,70	6,5

Примітки: * - різниця між аналогічними показниками у I та у II групі статистично достовірна ($p<0,05$);
 $^\circ$ - різниця між аналогічними показниками у I групі та у контрольній групі статистично достовірна ($p<0,05$);
 $^\circ$ - різниця між аналогічними показниками у II групі та у контрольній групі статистично достовірна ($p<0,01$).

ІЛ 6 є одним із доімунних цитокінів, тобто цитокіни першого покоління і синтезується клітинами природженої резистентності, зокрема Т-хелперами-2, моноцитами, ендотелієм. Саме він стимулює синтез Іg, дозрівання активованих В-лімфоцитів, посилює продукцію білків гострої фази.

ІЛ 2 є цитокіном другого порядку, що продукується Т-хелперами 1. Він індукує проліферацію Т-лімфоцитів, дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів, посилює функцію NK-клітин і моноцитів.

ІЛ 8 (нейтрофільний фактор) синтезується макрофагами, Т-лімфоцитами, фібробластами, ендотеліальними клітинами і посилює хемотаксис нейтрофілів, експресію адгезивних молекул, дегрануляцію, проникність судин.

При визначенні рівня прозапальних цитокінів в сироватці крові обстежених дітей з хронічною гастродуоденальною патологією, асоційованою з *H.pylori*, виявлено достовірно нижчий показник ІЛ 2 ($t=-2,25$; $p=0,029$) в порівнянні з контрольною групою та достовірно вищий ІЛ 6 ($t=2,10$; $p=0,039$) в порівнянні з хворими без гелікобактеріозу.

На відміну від I групи, у пацієнтів з хронічною гастродуоденальною патологією не асоційованою з

H.pylori відмічається достовірно нижчий рівень ІЛ 6 та ІЛ 8 в порівнянні з здоровими дітьми ($p<0,01$).

На нашу думку, такі зміни можна пояснити тим, що ІЛ 6 та ІЛ 8 синтезуються клітинами субепітеліального імунного захисту і першими з'являються в місці запального процесу слизової оболонки гастродуоденальної зони, особливо у дітей основна патологія яких асоційована з *H.pylori*.

Хронічні гастродуоденіти не асоційовані з *H.pylori* характеризувалися прямим кореляційним зв'язком між концентрацією в сироватці крові ІЛ2 і ІЛ6 ($r=0,465$), а також незначним зв'язком між ІЛ8 та ІЛ2 ($r=0,173$).

ВИСНОВКИ.

1. Проведені дослідження виявили достовірне підвищення рівня CD3, CD8 та CD16 та достовірно нижчі показники CD22 і імунорегуляторного індексу у дітей з хронічною гастродуоденальною патологією, асоційованою з *H.pylori* в порівнянні з контрольною групою ($p<0,05$).

2. Аналіз гуморальної ланки імунітету показав недостовірне зростання Іg М у дітей обох груп, який відображає гостроту запального процесу.

3. Визначені достовірно нижчі показники ІЛ 2 і достовірно вищі ІЛ 8 у дітей з хронічною гастродуо-

денальною патологією, асоційованою з *H. pylori* ($p < 0,05$) та достовірно нижчі показники ІЛ 6, ІЛ 8 в пацієнтів без гелікобактеріозу, може свідчити про реакцію прозапальних цитокінів на інфекційний агент у першому випадку і відсутність його в другому.

4. У пацієнтів з хронічним гастродуоденітом не асоційованим з *H. pylori* відмічено прямий кореляційний зв'язок між концентрацією в сироватці крові ІЛ 2 і ІЛ 6 ($r=0,465$), а також незначний зв'язок між ІЛ 8 та ІЛ 2 ($r=0,173$).

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Незважаючи на достатню увагу практикуючих лікарів

та науковців до проблеми хронічної гастродуоденальної патології у дітей ця проблема залишається актуальною. Удосконалюється діагностика, продовжується корекція курсів ерадикаційної терапії (Маастрихт IV), спрямована на усунення основного етіологічного фактору захворювання, але частота даної патології збільшується та «омолоджується». Тому пошук нових методів своєчасної діагностики, зокрема визначення концентрації прозапальних цитокінів у сироватці крові пацієнтів, має важливе діагностичне значення перебігу хронічної гастродуоденальної патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пархоменко Л.К., Ещенко А.В. Патология пищеварительной системы у детей и подростков с заболеваниями щитовидной железы // Здоровье ребёнка. – 2010. – № 5 (26). – С. 126-130.

2. Dimaline R. Attack and defense in the gastric epithelium – a delicate balance / R. Dimaline, A. Suarro // Exp. Physiol. – 2007. – Vol. 92. – P. 591–601.

3. Андрейчин М.А. Клінічна імунологія та алергологія / Андрейчин М.А., Чопяк В.В., Господарський І.Я. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. – 372 с.

4. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія/ за ред. В.П. Широкова. – Вінниця: Нова книга, 2010. – 952 с.

5. Макаренко Е.В. Генетические факторы патогенности *Helicobacter pylori* / Е.В. Макаренко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – № 3. – С. 78-83.

6. Сорокман Т.В. Імунологічна характеристика дітей із гастродуоденальним гелікобактеріозом / Т.В. Сорокман, Н.Є. Коцобіна, О.В. Сокольник // Здоровье ребенка. – 2010. – № 1. – С. 12-15.

7. Prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in normal children / F. Adler-Shohet, P. Palmer, G. Reed, K. Edwards // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2007. – Vol. 15, №2. – P. 172-178.

8. Мудров В.П. Особенности провоспалительной цитокиновой регуляции иммунного ответа на *Helicobacter pylori* инфекцию / В.П. Мудров, В.Н. Нелюбин // Иммунология. – 2004. – № 6. – С. 364-367.

9. Кононов А.В. Местный иммунный ответ на инфекцию *Helicobacter pylori* / А.В. Кононов // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. – 1999. – № 2. – С. 15-22.

Отримано 10.02.13