УДК 616.24-002-091.8-053.3

Г.А. ПАВЛИШИН, д. мед. н., професор; І.М. САРАПУК

/ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»/

# Оцінка окисного стресу в оптимізації методів діагностики негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку

## Резюме

**Оценка окислительного стресса в оптимизации методов диагностики негоспитальной пневмонии у детей раннего возраста**

Г.А. Павлишин, И.М. Сарапук

В статье представлены методы диагностики негоспитальных пневмоний у детей раннего возраста с помощью показателей окислительного стресса и выделены дополнительные критерии тяжести заболевания. Показано зависимость между тяжестью заболевания и показателями окислительного стресса у детей с негоспитальной пневмонией.

**Ключевые слова:** негоспитальная пневмония, дети раннего возраста, окислительный стресс

## Summary

**Evaluation of Oxidative Stress in the Optimization of Diagnostic Methods of Community-Acquired Pneumonia in Infants**

H.A. Pavlyshyn, I.M. Sarapuk

In the article it was shown diagnostic methods of community-acquired pneumonia in infants on the base of oxidative stress indexes and indicated additional criteria of disease severity. There was established correlation between disease severity and oxidative stress indexes in infants with community-acquired pneumonia.

**Key words:** community-acquired pneumonia, infants, oxidative stress

В усіх країнах світу, незалежно від рівня їх розвитку, негоспітальна пневмонія продовжує залишатися серйозною соціальною та медичною проблемою [1, 2]. Основні тенденції наукових досліджень зазначеної патології спрямовані на розробку додаткових діагностичних критеріїв негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку, які поєднуватимуть клінічні особливості та результати параклінічних досліджень [3, 4]. Виділені критерії дозволять своєчасно діагностувати інфекційну патологію у дітей раннього віку, верифікувати тяжкість та прогнозувати перебіг захворювання, можливість ускладнень.

У дітей раннього віку в якості першої лінії протиінфекційного захисту виступають фактори неспецифічної імунної реактивності, зокрема активні форми кисню (АФК) [5]. За умов їх надмірної генерації розвивається дисбаланс між про- та антиоксидантними системами – окисний стрес, що зумовлює мембранодеструктивні зміни внаслідок активації вільнорадикального окиснення ліпідів, білків та нуклеїнових кислот [6]. Окисний стрес тісно пов'язаний з патогенетичними змінами при пневмонії, зумовлюючи зниження активності сурфактанту, порушення функції гладеньких м'язів та β-адренорецепторів дихальних шляхів, гіперпродукцію слизу, активацію опасистих клітин, підвищену проникність епітелію та ендотелію [7].

**Мета роботи** – оптимізувати методи діагностики негоспітальних пневмоній у дітей раннього віку з виділенням додаткових критеріїв тяжкості захворювання на основі вивчення показників окисного стресу.

## Матеріали та методи дослідження

Проведено обстеження 73 дітей першого року життя, які перебували на стаціонарному лікуванні в обласній дитячій клінічній лікарні з діагнозом негоспітальної пневмонії, відповідно до Протоколу лікування дітей з пневмонією [8]. За ступенем тяжкості пневмонії хворих було розподілено на дві групи. Критерієм розподілу були клінічні та лабораторно-функціональні прояви захворювання, які оцінювали за індексом і шкалою тяжкості пневмонії [1]. Першу групу (I) склали 44 (60,3±5,8%) дитини з негоспітальною пневмонією середньої тяжкості, що відповідає I–II ступеню шкали тяжкості, другу (II) – 29 (39,7±5,8%) немовлят з тяжким перебігом, відповідно III–IV ступеня. За віком переважна більшість хворих – першого місяця життя – 35 (47,9±5,9%) дітей, від 1 до 6 місяців – 28 (38,4±5,7%), від 6 місяців до 1 року – 10 (13,7±4,1%). Групу контролю склали 23 практично здорових дітей того самого віку.

Утворення АФК у лейкоцитарній фракції оцінювали флуориметричним методом [9]. Генерацію супероксиданіон-радикалу ($O_2^-$), активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (К) визначали спектрофотометрично [10]. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичних пакетів «EXCEL» та «STATISTICA 7.0».

## Результати та їх обговорення

При дослідженні показників окисного статусу у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією встановлено, що сумарна про-

© Г.А. Павлишин, І.М. Сарапук, 2013

**Таблиця 1.** Статистичні характеристики показників окисного стресу у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією

| Показник | Статистичний показник | Групи обстежених | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Група контролю (n=23) | Немовлята з негоспітальною пневмонією | | |
| | | | Загалом (n=73) | I група (n=44) | II група (n=29) |
| Утворення АФК, УОФ/мл крові | Me<br>Lq<br>Uq | 8,19<br>7,35<br>9,11 | 19,15<br>17,15<br>22,75 | 17,23<br>16,29<br>18,73 | 24,11<br>21,23<br>25,75 |
| Супероксиданіон радикал нмоль/(хв×мл крові) | Me<br>Lq<br>Uq | 0,58<br>0,55<br>0,64 | 1,18<br>1,11<br>1,35 | 1,13<br>1,06<br>1,14 | 1,41<br>1,33<br>1,49 |
| СОД, ммоль/год/л | Me<br>Lq<br>Uq | 63,80<br>60,90<br>67,30 | 46,30<br>39,30<br>49,80 | 48,75<br>47,70<br>50,85 | 38,30<br>37,80<br>40,20 |
| Каталаза, кат/л | Me<br>Lq<br>Uq | 59,30<br>57,80<br>61,80 | 46,90<br>36,50<br>50,60 | 50,20<br>47,80<br>51,30 | 32,90<br>30,60<br>37,20 |

*Примітки:* АФК – активні форми кисню, УОФ – умовні одиниці флуоресценції, СОД – супероксиддисмутаза.

**Таблиця 2.** Статистичні характеристики множинного та попарного порівняння показників окисного стресу у хворих, що спостерігалися

| Статистичні критерії порівняння та рівень їхньої значущості | | Показник окисного стресу | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Утворення АФК, УОФ/мл крові | Супероксиданіон радикал, нмоль/(хв×мл крові) | СОД, ммоль/год/л | Каталаза, кат/л |
| KW | H | 78,44 | 80,57 | 81,54 | 80,84 |
| | p | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| MW | p | $p_{к-1}$<0,001<br>$p_{к-2}$<0,001<br>$p_{1-2}$<0,001 | $p_{к-1}$<0,001<br>$p_{к-2}$<0,001<br>$p_{1-2}$<0,001 | $p_{к-1}$<0,001<br>$p_{к-2}$<0,001<br>$p_{1-2}$<0,001 | $p_{к-1}$<0,001<br>$p_{к-2}$<0,001<br>$p_{1-2}$<0,001 |

*Примітка:* рівень статистичної значущості, згідно з поправкою Бонферонi, при порівнянні показників груп з контролем було обрано p<0,025.

дукція АФК у всіх дітей з негоспітальною пневмонією в 2,34 разу перевищує показники контролю (p<0,001). Визначено вірогідне зростання інтенсивності утворення оксирадикалів порівняно з контролем у дітей обох груп – $p_{к-1}$<0,001 та $p_{к-2}$<0,001 відповідно (табл. 1).

Однією з найбільш агресивних АФК, яка утворюється в нейтрофілах під час дихального зриву, є супероксиданіон-радикал ($O_2^-$), що має потужні антимікробні властивості. Його генерація у хворих з негоспітальною пневмонією значно перевищує показники у здорових осіб і при цьому корелює зі ступенем тяжкості захворювання, зокрема, у дітей I групи становить 1,13 (1,06; 1,14) нмоль/(хв×мл крові), у II групі – 1,41 (1,33; 1,49) нмоль/(хв×мл крові), достовірно перевищуючи показники контролю – 0,58 (0,55; 0,64) нмоль/(хв×мл крові), $p_{к-1}$<0,001, $p_{к-2}$<0,001. Помірне збільшення продукції АФК у дітей раннього віку здійснює захисні функції, сприяє неспецифічній резистентності, формуючи потужний комплекс бактерицидних механізмів фагоцитозу, спрямований на знешкодження патогенних мікроорганізмів. Надмірна генерація вільних радикалів призводить до розвитку окисного стресу з порушенням функцій клітин, пошкодження та їх загибелі.

Важливою ланкою захисту клітин від процесів окисного стресу є антиоксидантна система у вигляді комплексу ферментів – супероксиддисмутази, каталази, які контролюють і гальмують вільнорадикальні процеси та нейтралізують і елімінують надлишок АФК з організму [11]. У хворих обох груп з пневмонією спостерігається зниження активності СОД і каталази порівняно з контролем, що пов'язано з їх інтенсивним споживанням з метою дезактивації супероксидного радикалу і зниження токсичного впливу АФК (відповідно $p_{к-1}$<0,001, $p_{к-2}$<0,001). Варто зазначити, що з наростанням тяжкості захворювання активність каталази достовірно знижується ($p_{1-2}$<0,001) (див. табл. 1). Під час попарного порівняння даного показника між групами визначено достовірну відмінність ($p_{1-2}$<0,001) (табл. 2).

Під час проведення дисперсійного аналізу Краскла–Уолліса статистичних характеристик показників окисного стресу у сироватці крові обстежуваних було з'ясовано, що критерій Краскла–Уолліса (H) за всіма параметрами є високозначущим (див. табл. 2). Це дає право стверджувати, що статистичні характеристики відповідних показників різних груп достовірно значуще відрізняються між собою, а рівень активності досліджуваних параметрів залежить від належності пацієнтів до тієї чи іншої групи (для АФК УОФ/мл – λ=0,037424, F=14,26, p<0,001; для $O_2^-$, нмоль/(хв×мл) – λ=0,036585, F=12,93, p<0,001; для СОД – λ=0,045091, F=26,40, p<0,001; для каталази – λ=0,043499, F=23,87, p<0,001).

Встановлено зворотні кореляційні зв'язки між прооксидантними та антиоксидатними механізмами. Так, зі збільшенням генерації АФК, суперкосиданіон-радикалу відмічається пригнічення активності ферментів СОД та каталази (p<0,001). Позитивний кореляційний зв'язок між супероксиддисмутазою та каталазою (R=+0,85, p<0,001) підтверджує пригнічення активності обох антиоксидантних ферментів у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією, що посилює прояви окисного стресу.

Отримані результати узгоджуються з даними літератури. Так, M. Cemek, H. Caksen та співавтори (2006) вказують, що окисний стрес посилюється, в той час як активність ферментних та неферментних антиоксидантів є значно нижчою у дітей з пневмонією віком від 2 до 11 років [12]. У роботах G.M. Bhoite та співавторів (2011) зазначено пригнічення неферментативної ланки антиоксидантного захисту (АОЗ), зокрема, зниження рівнів вітамінів С та Е в дитячому організмі при негоспітальній пневмонії [13]. У роботах вітчизняних авторів доведено посилення процесів перекисного окиснення ліпідів, які є маркерами окисного стресу у дітей різного віку з негоспітальною пневмонією [14, 15].

## Висновки

Таким чином, у дітей раннього віку з негоспітальною пневмонією розвивається окисний стрес, інтенсивність якого корелює з ступенем тяжкості захворювання. У дітей з перебігом негоспітальної пневмонії середньої тяжкості спостерігається помірне збільшення продукції оксирадикалів, які чинять захисний антимікробний ефект. Тяжкий перебіг пневмонії у немовлят характеризується надмірною генерацією АФК з недостатньою активністю ферментів антиоксидантного захисту, що підтверджує інтенсивність окисного стресу з дестабілізацією клітинних мембран, під-

вищенням їх проникності, інактивацією ферментативних систем, що може слугувати додатковим діагностичним критерієм тяжкості негоспітальної пневмонії у дітей раннього віку. Позитивні кореляційні зв'язки показників окисного стресу з тяжкістю захворювання та від'ємні кореляційні зв'язки антиоксидантних показників підтверджують їх діагностичну цінність як додаткових маркерів тяжкості захворювання.

## Список використаної літератури


1. 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.
2. Requejo H.I. Community-acquired pneumonia in the childhood: analysis of the diagnostic methods / H.I. Requejo // Brazilian J. of Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 11, №2. – P. 246–248.
3. Георгиянц М.А. Тяжелые пневмонии у детей: проблемы диагностики и рациональной антибиотикотерапии в Украине / М.А. Георгиянц, В.А. Корсунов, Н.С. Пороша // Медицина неотложных состояний. – 2005. – №1 (1) [Электронный ресурс].
4. Кондратова И.Ю. Клеточный энергетический обмен у детей первого года жизни при осложненных пневмониях / И.Ю. Кондратова, А.С. Сенаторова // Междунар. мед. журн. – 2008. – №4 (14). – С. 36–39.
5. Marodi L. Innate cellular immune responses in newborns / L. Marodi // Clinical Immunology. – 2006. – Vol. 118, №2 3. – P. 137–144.
6. Pham-Huy L.A. Free radicals, antioxidants in disease and health / L.A. Pham-Huy, H. He, C. Pham-Huy / Int. J. of Biomed. Science. – 2008. – Vol. 4, №2. – P. 89–96.
7. Dekhuijzen P.N. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease / P. N. Dekhuijzen // Eur. Respiratory J. – 2004. – Vol. 23, №4. – P. 629–636.
8. Наказ МОЗ України від 13.01.05 №18 Про затвердження Протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю «Дитяча пульмонологія».
9. Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: A graded response to membrane stimulation / Bass D.A., Parce J.W., Dechatelet L.R. [et al.] // Immunol. – 1993. – Vol. 130. – P. 1910–1917.
10. Hassoun E.A. The induction of oxidative stress and cellular death by the drinking water disinfection by-products, dichloroacetate and trichloroacetate in J774.A1 cells / E.A. Hassoun, S. Ray // Comp. Biochem. Physiol. – 2003. – Vol. 135C, №2. – P. 119–128.
11. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants / M. Genestra // Cellular Signalling. – 2007. – Vol. 19, №9. – P. 1807–1819.
12. Oxidative stress and enzymic-non-enzymic antioxidant responses in children with acute pneumonia / Cemek M., Caksen H., Bayiroglu F. [et al.] // Cell Biochemistry and Function – 2006. – Vol. 24, №3. – P. 269–273.
13. Level of antioxidant vitamins in children suffering from pneumonia / G.M. Bhoite, S.M. Pawar, M.P. Bankar. A.A. Momin // Current Pediatric Research. – 2011. – Vol. 15, №1. – P. 11–13.
14. Метаболічні показники у дітей, хворих на гостру пневмонію / Давидчук Г.М., Гайдаш І.А., Козіна С.Ю. [та ін.] // Укр. журн. клінічної та лабораторної медицини. – 2008. – Т. 3, №2. – С. 66–70.
15. Ручко А.Ф. Клініко-патогенетичне значення вільнорадикальних процесів у дітей з гострою бронхолегеневою патологією / А.Ф. Ручко, Т.Ю. Череднікова // Перинатология и педиатрия. – 2010. – №3 (43). – С. 69–70.