

in viral pathogenesis / G. Herbein, W. O'Brien // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 2000. – N. 223. – P. 241-257.

9. Тодоріко Л.Д. Цитокини – нова система регуляції захисних реакцій організму, їх роль у формуванні запалення / Л.Д. Тодоріко, К.В. Рихліцька // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 91-97.

DYNAMICS OF SERUM INTERLEUKIN-2 CONTENT IN PATIENTS WITH ACUTE RESPIRATORY DISEASES

V.M. Kozko, O.I. Mohylenets, H.O. Solomennyk, H.I. Hradil, N.F. Merkulova, K.V. Yurko, O.M. Vynokurova, N.O. Yekimova, V.V. Nikitina, O.I. Chiryukina

SUMMARY. The results of the interleucin-2 dynamics research in patients with acute respiratory diseases are presented. Possibility of this index use to assess the effectiveness of therapy are considered.

Key words: acute respiratory diseases, interleukin-2.

Отримано 27.09.2011 р.

© Римаренко Н.В., 2011

УДК 616.322-002+616.917+616.94:577.174.14-0.53.2

Н.В. Римаренко

ВПЛИВ ЕНДОТОКСИНЕМІЇ КИШКОВОГО ПОХОДЖЕННЯ НА БАЛАНС ЦИТОКІНІВ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БАКТЕРІЙНІ АНГІНИ І СКАРЛАТИНУ

Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

Представлено результати дослідження ІЛ-1b, ІЛ-6, ІЛ-1РА у 90 дітей, хворих на бактерійні ангіни і скарлатину різного ступеня тяжкості, що перебігають на тлі підтвердженої ендотоксинемії кишкового походження. Виявлено дисбаланс рівнів ІЛ-1b та ІЛ-1РА у хворих на тяжкі форми хвороби.

Ключові слова: бактерійна ангіна, скарлатина, ендотоксин, цитокини, діти.

При сучасному розгляді патогенетичних механізмів розвитку запальної відповіді при захворюваннях інфекційного ґенезу у дітей, що перебігають на тлі ендотоксинемії кишкового походження, особливий інтерес, на нашу думку, представляє оцінка стану цитокін-асоційованої ланки гомеостазу.

До мікробних активаторів вивільнення цитокінів при розвитку грампозитивних інфекцій відносять такі компоненти, як тейхоєві і ліпотейхоєві кислоти, пептидоглікан. Однак найбільш сильним індуктором викиду цитокінів вважають

ендотоксин (ЕТ) [1-3]. Ендотоксин, взаємодіючи з мембранозв'язаним рецепторним комплексом CD14/TLR4/MD2 на поверхні моноцитів/макрофагів, призводить до активації відповідних ефекторних функцій цих клітин, синтезу цитокінів та інших медіаторів запалення [4-7]. Наступне зв'язування цитокінів зі специфічними рецепторами на цитоплазматичній мембрані клітин в свою чергу викликає каскадну реакцію, що веде до індукції, підсилення або пригнічення активності регульованих ними процесів [7-10]. У фізіологічному стані утворення і вивільнення цитокінів відбувається короткочасно і жорстко регулюється, що достатньо для виконання їх функції, в той час як надлишкова секреція цитокінів призводить до прогресуючого запалення [1, 11, 12].

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що при грампозитивних інфекціях у дітей, зокрема, бактерійних ангінах, скарлатині і гнійних менингітах, ЕТ грамнегативної мікрофлори кишечника у підвищеній кількості проникає в системний

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

кровоплин з розвитком ендотоксинемії [13]. Такий феномен може бути небезпечний з точки зору надлишкової активації цитокинової відповіді, що призводить до підсилення як місцевого запального процесу, так і інфекційного токсикозу, спричиненого основним захворюванням.

Метою дослідження стало визначення динаміки рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6, рецепторного антагоніста ІЛ-1 (ІЛ-1РА) у сироватці крові дітей, хворих на бактерійні ангіни і скарлатину, залежно від рівня ендотоксинемії кишкового походження.

Пацієнти і методи

Обстежено 90 хворих віком від 2 до 6 років, які отримували лікування в КПУ «Дитяча інфекційна клінічна лікарня» м. Сімферополя в період з 2005 по 2008 рр.

Всі діти були розподілені на 4 групи: в 1-у групу ввійшли 34 хворих на бактерійну ангіну середнього ступеня тяжкості; у 2-у – 29 дітей, хворих на ангіну у тяжкій формі, з яких у 19 дітей захворювання ускладнилось лімфаденітом, синуситом або паратонзилітом; 3-ю склали 15 хворих із середньотяжкою формою скарлатини; в 4-у увійшли 12 хворих із тяжкою формою скарлатини, тяжкість якої була зумовлена розвитком бактерійних ускладнень (синуситу, лімфаденіту, отиту, паратонзиліту) і метаболічних розладів. При бактеріологічному дослідженні хворих на ангіни в основному були виділені *Streptococcus pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. viridans*, *Staphylococcus aureus*.

Матеріалом дослідження служила периферична кров, яку забирали у гострий період недуги (при ушпиталенні і на 2-3-ю добу перебування) і перед випискою зі стаціонару.

Групу порівняння склали 25 здорових дітей віком від 2 до 6 років.

Кількісний вміст ендотоксину в сироватці крові хворих визначали методом хромогенного аналізу за кінцевою точкою, де, після змішування ЛАЛ-реактиву *Endosafe[®] Endochrome* із досліджуваним зразком, вимірювали жовте забарвлення, що розвивається в реакційній суміші, за допомогою спектрофотометра, при довжині хвилі 405-410 нм [14]. Інтенсивність забарвлення була прямо пропорційна вмісту ендотоксину в зразку. Концентрацію ендотоксину в зразку визначали за калібрувальною кривою, а результат виражали в міжнародних одиницях ендотоксину/мл (МЕО/мл). Оскільки дослідження ЕТ проводилось у дітей, хворих на інфекційні захворювання, викликані грамположитивними збудниками, що підтверджувалось бактеріологічними методами, кишкове походження виявленого в сироватці крові ЕТ не викликало сумніву.

Кількісне визначення цитокинів у сироватці крові хворих здійснювали методом ІФА з використанням на-

бору реагентів «ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-1РА-ІФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», Росія). Основним реагентом набору були моноклональні антитіла до відповідних інтерлейкінів, іммобілізовані на поверхні лунок полістирольного планшету. Оптичну щільність розчинів у лунках вимірювали за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 450 нм. Інтенсивність жовтого забарвлення була пропорційна кількості інтерлейкіну, що міститься в зразках.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що при ушпиталенні хворих рівень ІЛ-1 β у сироватці крові був значно підвищений у всіх групах (табл. 1).

У хворих на бактерійні ангіни (1-а і 2-а групи) він зростав у середньому в 3-4 рази ($p < 0,001$), а у хворих на скарлатину (3-я і 4-а групи) збільшувався відповідно в 5 і 8 разів ($p < 0,001$) порівняно з показниками у здорових дітей. Крім того, ступінь підвищення ІЛ-1 β у групах хворих із тяжкими формами хвороби (2-а і 4-а) був на 32 і 40 % відповідно вище, ніж у групах хворих із середньою тяжкістю захворювання ($p_2 < 0,001$).

Імовірно, що на більш активний синтез ІЛ-1 β у хворих із тяжкими формами хвороби, поруч зі збудниками, які викликали основне захворювання, впливав і ЕТ, рівень якого в 3 рази перевищував такий у хворих із середньою тяжкістю захворювання ($p_2 < 0,001$).

На 2-3-ю добу перебування в стаціонарі, коли стан хворих із середньою тяжкістю покращився, а у хворих із тяжкими формами стабілізувався, рівень ІЛ-1 β достовірно знижувався відносно часу ушпиталення, хоча і перевищував фізіологічний у 2 рази у пацієнтів із ангінами ($p < 0,01$) і в 3-5 разів у хворих на скарлатину ($p < 0,001$; $p < 0,002$). В той же час концентрація ЕТ в сироватці крові в 2 рази перевищувала рівень при ушпиталенні ($p_1 < 0,001$).

При виписці зі стаціонару рівень ІЛ-1 β зберігався підвищеним тільки у хворих із тяжкими формами ангін і скарлатини ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Аналогічні зміни виявлені і в динаміці іншого цитокину. Рівень ІЛ-6 на момент ушпиталення був підвищений у сироватці крові хворих 1-ї, 3-ї і 4-ї груп у середньому в 2 рази, а 2-ї групи – в 3 рази ($p < 0,001$). Причому концентрація ІЛ-6 у хворих із тяжкими формами (2-а і 4-а групи) була на 52 і 24 % відповідно вище, ніж у хворих із середньою тяжкістю цих захворювань ($p_2 < 0,001$; $p_2 < 0,01$). Через 2-3 дні від початку терапії рівень ІЛ-6 повертався до фізіологічного у хворих усіх обстежених

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Динаміка рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-1РА і вмісту ЕТ в сироватці крові хворих на бактерійні ангіни і скарлатину

Група хворих	Етап дослідження		ЕТ (МЕО/мл)	Інтерлейкіни (пг/мл)		
				ІЛ-1 β	ІЛ-6	ІЛ-1РА
1-а (n=34)	При ушпиталенні	p	2,59 \pm 0,21 <0,001	1,10 \pm 0,07 <0,001	23,90 \pm 0,97 <0,001	643,0 \pm 72,8 <0,001
	На 3-ю добу	p	4,13 \pm 0,23 <0,001	0,71 \pm 0,06 <0,001	9,20 \pm 0,80 >0,2	576,0 \pm 68,5 <0,001
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,2
При виписці	p	0,14 \pm 0,01 <0,001	0,46 \pm 0,05 >0,05	11,10 \pm 0,99 >0,2	308,0 \pm 35,3 <0,02	
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2-а (n=29)	При ушпиталенні	p	6,23 \pm 0,79 <0,001	1,45 \pm 0,16 <0,001	36,30 \pm 2,57 <0,001	825,0 \pm 108,0 <0,001
	На 3-ю добу	p	12,68 \pm 0,63 <0,001	0,65 \pm 0,10 <0,01	14,20 \pm 1,89 >0,2	575,0 \pm 85,8 <0,001
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,1
При виписці	p	1,49 \pm 0,14 <0,001	0,69 \pm 0,05 <0,001	16,40 \pm 0,73 <0,05	1339,0 \pm 87,6 <0,001	
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
		p ₂	<0,001	<0,002	<0,001	<0,001
3-я (n=15)	При ушпиталенні	p	2,32 \pm 0,31 <0,001	2,02 \pm 0,28 <0,001	19,50 \pm 0,84 <0,001	614,0 \pm 48,5 <0,001
	На 3-ю добу	p	4,82 \pm 0,40 <0,001	1,16 \pm 0,26 <0,001	10,70 \pm 1,40 >0,2	379,0 \pm 31,4 <0,001
		p ₁	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001
При виписці	p	0,21 \pm 0,03 <0,001	0,51 \pm 0,09 >0,05	8,77 \pm 1,33 <0,1	295,0 \pm 35,8 <0,05	
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
4-а (n=12)	При ушпиталенні	p	6,02 \pm 0,50 <0,001	2,83 \pm 0,19 <0,001	24,10 \pm 1,63 <0,001	720,0 \pm 51,1 <0,001
	На 3-ю добу	p	12,27 \pm 0,64 <0,001	1,74 \pm 0,29 <0,001	15,30 \pm 1,52 <0,1	458,0 \pm 49,1 <0,001
		p ₁	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
При виписці	p	1,1 \pm 0,13 <0,001	0,94 \pm 0,18 <0,001	17,30 \pm 1,76 <0,05	1089,0 \pm 64,0 <0,001	
		p ₁	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001
		p ₂	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001
Здорові діти			0	0,34 \pm 0,05	11,80 \pm 1,85	199,8 \pm 29,4

Примітки: p – достовірність порівняно з показником у групі здорових дітей; p₁ – при ушпиталенні у тій же групі хворих; p₂ – у хворих із середнім ступенем тяжкості того ж захворювання.

груп, а на момент виписки зі стаціонару залишався незначно підвищеним тільки у хворих із тяжкими формами ангіни і скарлатини (p<0,05).

Такий масивний викид прозапальних інтерлейкінів, що спостерігався у гострому періоді ангіни і скарлатини, зумовлений, у першу чергу, впливом антигенів грампозитивних бактерій, по-друге, впливом ЕТ. Так, зниження рівнів як ІЛ-1 β , так

і ІЛ-6 наставало через 2-3 дні від початку терапії, коли загальний стан хворих стабілізувався, в той час як концентрація ЕТ у сироватці крові хворих значно перевищувала фізіологічну. При цьому підвищений рівень ЕТ, ІЛ-1 β і ІЛ-6, що зберігався у пацієнтів із тяжкими формами ангіни і скарлатини на етапі клінічного видужання і виписки зі стаціонару, свідчить про безперечний вплив ендо-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

токсинемії на стимуляцію цитокинової відповіді у цих хворих.

При дослідженні рівня рецепторного антагоніста ІЛ-1, який пригнічує біологічну активність ІЛ-1 β , конкуруючи з ним за зв'язування зі специфічним рецептором, встановлено, що при ушпиталенні його вміст підвищувався в сироватці крові хворих всіх груп у середньому в 3-4 рази ($p < 0,001$), без достовірної різниці між показниками у хворих із тяжкою і середньотяжкою формами захворювання. До 2-3-го дня перебування в стаціонарі концентрація ІЛ-1РА залишалась вище фізіологічної у всіх хворих ($p < 0,001$), зменшуючись порівняно з такою при ушпиталенні тільки у хворих на скарлатину ($p_1 < 0,001$). Достовірної різниці між показниками хворих із середньою тяжкістю і тяжкими формами хвороби не відмічалось.

Результати наших досліджень узгоджуються з даними літератури про виявлення надлишкового вмісту прозапальних цитокінів при одночасній нестачі протизапальних цитокінів крові в гострому періоді тяжких та ускладнених форм ангіні [15]. Одержані результати автори пояснили порушенням процесів елімінації збудника хвороби при розвитку дисбалансу цитокинового арсеналу і вторинної імунної недостатності.

На момент виписки із стаціонару рівень ІЛ-1РА, хоча і продовжував знижуватися у хворих на ангіні і скарлатину середньої тяжкості, але не досягав фізіологічної норми ($p < 0,02$; $< 0,05$). В той же час у групах хворих із тяжкими формами ангіні і скарлатини спостерігалось збільшення концентрації ІЛ-1РА в 1,6 і 1,5 разу відповідно порівняно з показниками при ушпиталенні ($p_1 < 0,001$).

Дані наукових робіт, присвячених вивченню вмісту ІЛ-1РА в сироватці крові при інфекційних захворюваннях у дітей, свідчать про те, що найбільш високий його рівень спостерігався у хворих із тяжкими та ускладненими формами в періоді розпалу захворювання, а також у хворих, що перебували в критичному стані, зокрема, хворих на сепсис, підтверджений позитивною гемокультурою [16, 17]. У нашому дослідженні найбільш значне підвищення рівня протизапального ІЛ-1РА також виявлено у хворих із тяжкими формами захворювання, причому у всіх хворих на скарлатину і у 65 % хворих на ангіну відмічався розвиток ускладнень. Однак максимально високий рівень ІЛ-1РА відмічався не в гострому періоді захворювання, а в періоді клінічного видужання, що можна розцінити як дисбаланс цитокінів у цих хворих, пов'язаний з підвищеним рівнем ІЛ-1 β і

ЕТ у сироватці крові пацієнтів на цьому етапі хвороби.

Таким чином, у гострому періоді ангіні і скарлатини, що перебігають у тяжкій формі, відмічається дисбаланс у системі прозапальних/протизапальних цитокінів за рахунок переважання перших, а в періоді клінічного видужання – значного превалювання других (ІЛ-1РА). Ці порушення, які зумовлені як екзогенною токсемією, так і ендотоксинемією кишкового походження, є значимими чинниками у формуванні умов для прогресування місцевого запального процесу, підсилення інфекційного токсикозу і розвитку ускладнень. Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку буде розробка нових способів боротьби з ендотоксинемією.

Висновки

1. У хворих із середньотяжкими формами бактерійних ангіні і скарлатини, перебіг яких супроводжувався розвитком помірної ендотоксинемії, синтез прозапальних і протизапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-1РА) проходив збалансовано як у період розпалу недуги, так і на етапі клінічного видужання, що сприяло гладкому перебігу хвороби.

2. У хворих із тяжкими формами недуги, що перебігають на тлі вираженої ендотоксинемії, розвивався дисбаланс синтезу цитокінів, який полягав у превалюванні ІЛ-1 β , ІЛ-6 в гострому періоді, а ІЛ-1РА – в період клінічного видужання, що сприяло ускладненому перебігу бактерійних ангіні і скарлатини.

3. Провідними патогенетичними чинниками, що зумовлюють розвиток цитокинового дисбалансу у дітей, хворих на тяжкі форми ангіні і скарлатини, є антигени збудників, які викликали основне захворювання, а також ендотоксин кишкового походження.

Література

1. Исаков Ю.Ф. Сепсис у детей / Ю.Ф. Исаков, Н.В. Белобородова. – М., 2001. – 369 с.
2. Рябиченко Е.В. Цитокиностимулирующая активность липополисахарида грамотрицательных бактерий и его роль в противоопухолевом иммунитете / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко, Л.Г. Веткова // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунол. – 2005. – № 6. – С. 76-81.
3. Тумкина М.Е. Влияние эндотоксина на функциональные ответы моноцитов / М.Е. Тумкина, Е.И. Асташкин, С.В. Грачев // Патогенез. – 2004. – № 4. – С. 11.
4. The influence of CD14 genomic polymorphism on CD14 gene expression as well as protein release and its clinical significance in patients with extensive burns / [J. Lin, Y.M. Yao, Z.H. Huang et al.] // Zhonghua Wai Ke Za Zhi. – 2006. – Vol. 44, N 13. – P. 907-910.

5. CD14 -550 C/T, which is related to the serum level of soluble CD14, is associated with the development of respiratory syncytial virus bronchiolitis in the Japanese population / [Y. Inoue, N. Shimojo, Y. Suzuki et al.] // J. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 195, N 11. – P. 1618-1624.
6. Салманова О.Н. Влияние пептидогликанов, тейхоевых кислот и липополисахаридов на функциональную активность естественных киллеров / О.Н. Салманова // Український медичний альманах. – 2006. – Т. 9, № 3. – С. 123-125.
7. Абатуров А.Е. Молекулярные механизмы неспецифической защиты респираторного тракта: распознавание патоген-ассоциированных молекулярных структур / А.Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2006. – № 3. Электронная версия журнала, pediatric.mif-ua.com.
8. Identification of meningococcal LPS as a major monocyte activator in IL-10 depleted shock plasmas and CSF by blocking the CD14-TLR4 receptor complex / [A. Bjerre, B. Brusletto, R. Ovstebo et al.] // J. Endotoxin. Res. – 2003. – Vol. 9, N 3. – P. 155-163.
9. Анализ молекулярного взаимодействия в системе: IL-1 β – IL-1RA – IL-1R / Л.В. Ковальчук, Б.Н. Соболев, Л.В. Ганковская, А.А. Юдин // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 6-10.
10. Мальцева Л.А. Сепсис: эпидемиология, патогенез, диагностика, интенсивная терапия / Л.А. Мальцева, Л.В. Усенко, Н.Ф. Мосенцев. – Днепропетровск, 2004. – 160 с.
11. Фактор некроза опухоли, интерлейкин-6, эндотоксин и прокальцитонин при септическом шоке у больных с опухолевыми заболеваниями системы крови / [В.М. Городецкий, Г.М. Галстян, А.А. Левина и др.] // Терапевт. архив. – 2002. – № 7. – С. 56-61.
12. Сравнительная информативность определения уровня прокальцитонина, интерлейкина-8 и С-реактивного белка в сыворотке крови как критериев системного воспалительного ответа при раннем неонатальном сепсисе / [Т.В. Бирюкова, И.Г. Солдатова, Н.Н. Володин и др.] // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 4. – С. 43-50.
13. Римаренко Н.В. Рівень ендотоксину кишкового походження в сироватці крові при бактеріальних ангінах, скарлатині і гнійних менінгітах у дітей / Н.В. Римаренко // Здоровье ребенка. – 2011. – № 1 (28). – С. 90-93.
14. Применение хромогенного LAL-теста по конечной точке для определения уровня эндотоксинемии / [Е.Н. Егорова, М.А. Горшкова, М.А. Кузьмина и др.] // Клин. лаб. диагностика. – 2008. – № 9. – С. 27.
15. Нагоев Б.С. Клинико-патогенетическая динамика цитокинов у больных ангиной / Б.С. Нагоев, М.Х. Нагоева // Инфекционные болезни. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 42-46.
16. Elevated serum levels of IL-1ra in children with Plasmodium falciparum malaria are associated with increased severity of disease / [C.C. John, G.S. Park, N. Sam-Agudu et al.] // Cytokine. – 2008. – Vol. 41, N 3. – P. 204-208.
17. Diagnostic accuracy of G-CSF, IL-8, and IL-1ra in critically ill children with suspected infection / [J.E. Fischer, A. Benn, S. Harbarth et al.] // Intensive Care Medicine. – 2002. – Vol. 28, N 9. – P. 1324-1331.

INFLUENCE OF ENDOTOXINEMIA OF INTESTINAL ORIGIN ON THE BALANCE OF CYTOKINES AT BACTERIAL QUINSY AND SCARLET FEVER IN CHILDREN

N.V. Rymarenko

SUMMARY. Results of research of the levels of Il-1b, Il-6, Il-1PA in 90 children with bacterial anginas and scarlet fever of different degree of severity and confirmed endotoxinemia of intestinal origin are stated in the article. The imbalance of the levels of Il-1b and Il-1PA in patients with severe forms of disease was revealed.

Key words: bacterial quinsy, scarlet fever, endotoxin, cytokines. children.

Отримано 19.10.2011 р.