

Д.Ф. Сергиенко, О.А. Башкина, Х.М. Галимзянов, Г.Н. Янкина, М.С. Шашина

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНООПОСРЕДОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ КОЛОНИЗАЦИИ БРОНХИАЛЬНОГО ДЕРЕВА *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Исследованы уровни про- и противовоспалительных цитокинов у детей с муковисцидозом (МВ) при хроническом высеве *Pseudomonas aeruginosa* в зависимости от степени тяжести заболевания. Отмечено повышение продукции про- и противовоспалительных цитокинов при нарастании тяжести МВ как в сыворотке крови, так и в мокроте больных. При нарастании тяжести заболевания наблюдается снижение активности клеточного иммунного ответа и активизация гуморального. Высокие показатели ИЛ-1 β , ИЛ-6 в биотопах могут косвенно свидетельствовать о наличии бронхоэктазов, что требует дальнейшего обследования и, в случае необходимости, коррекции лечения.

Ключевые слова: муковисцидоз, дети, цитокины, *Pseudomonas aeruginosa*

D.F. Sergienko, O.A. Bashkina, H.M. Galimzyanov, G.N. Yankina, M.S. Shashina

THE PECULIARITIES OF CYTOKINE-MEDIATED INFLAMMATION IN CHILDREN WITH MUCOVISCIDOSIS IN CHRONIC COLONIZATION OF BRONCHIAL TREE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

There were investigated the levels of pro-and antiinflammatory cytokines in children with mucoviscidosis (MV) in chronic inoculation pseudomonas aeruginosa in connection with severity degree of the disease. It was found out the increase of production of pro-and anti-inflammatory cytokines with increase of MV severity in the blood serum and sputum of the patients. In case of growing disease severity it could be possible to observe the decrease cellular immune activity response and activization of humoral one. The high indexes of IL-1 β , IL-6 in biotopes may show the presence of bronchoectasis, it demands further examination and if it is necessary, treatment correction.

Key words: mucoviscidosis, children, cytokines, *Pseudomonas aeruginosa*.

Муковисцидоз (МВ) – наследственное моногенное заболевание, характеризующееся поражением экзокринных желез жизненно важных органов и систем и имеющее обычно тяжелое течение и прогноз [1]. В настоящее время интенсивные иммунологические исследования позволили выявить общие закономерности в патогенезе ряда заболеваний. Обобщение полученных данных привело к формированию концепции обиммуноопосредованных воспалительных заболеваниях. Существует мнение, что хронический воспалительный процесс при МВ поддерживается за счет дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов, что приводит к нарушению продукции и регуляторных отношений Th1 и Th2-лимфоцитов [2, 3]. При этом хроническая респираторная инфекция, являясь основным триггером воспалительного процесса в бронхиальном дереве, играет определяющую роль в течение заболевания и смертности [3, 4]. Несмотря на многообразие возбудителей, ключевую роль у больных муковисцидозом играет синегнойная инфекция [4]. Как показали исследования, первый высев *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) встречается уже на 1-м году жизни больного МВ, а хроническая колонизация наблюдается у 25–58 % детей и 80–90 % взрослых и вызывает наиболее тяжелое и прогностически неблагоприятное течение болезни [1, 4, 7].

Исходя из вышеизложенного, становится очевидна актуальность определения основных медиаторов воспаления у детей с хронической колонизацией в бронхиальном дереве *Pseudomonas aeruginosa*, что позволит уточнить патогенетические механизмы недуга при данном возбудителе и прогнозировать течение заболевания.

Цель исследования: Изучить динамику провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у детей с муковисцидозом при хронической колонизации бронхиального дерева *Pseudomonas aeruginosa* с учетом степени тяжести.

Материалы и методы. Основу исследования составили 55 детей в возрасте от 3 до 17 лет с диагнозом муковисцидоз, находящихся на лечении в отделении медицинской генетики Детской республиканской клинической больницы г. Москвы, МУЗ «Городская детская клиническая больница № 2» г. Астрахани и МУЗ «Городская детская клиническая больница № 7» г. Волгограда. У всех пациентов в микробиологическом пейзаже мокроты идентифицирована *Pseudomonas aeruginosa* в различных титрах. В 65,5% процентов случаев наблюдался высев монокультуры *Pseudomonas aeruginosa*, в 34,5% всех случаев в сочетании с другими возбудителями (*Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*). Средний возраст, обследованных детей составил 10,5 $\pm$ 1,7 года. Выявлено, что большую часть больных составляют девочки – 54,6%, мальчики меньшую – 45,4%.

Всем больным диагноз МВ верифицировался на основании: анамнестических данных, доминирующих клинических синдромов: респираторного и кишечного; подтверждался трехкратными положительными потовыми пробами методом пилокарпинового электрофореза или на системе «Макродакт»–«Sweat-Chek». В сомнительных случаях дополнительно проводилось измерение разности электрических потенциалов на эпителии носа и ДНК-диагностика.

Для достижения поставленной цели больные были разделены на 2 группы согласно степени тяжести заболевания. Первую составили дети со среднетяжелой формой заболевания – 23 больных (41,8%), во второй – диагностирована тяжелая форма МВ – 32 пациента (58,2%). Исследования проводились на основе собственных наблюдений и данных медицинской документации. Все дети были обследованы по общим клиническим методикам согласно стандартам, рекомендованным для данной категории больных.

Содержание интерлейкинов (ИЛ) в сыворотке крови и в мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) и «BCM Diagnostics» (США).

В контрольную группу для иммунологических исследований вошло 20 практически здоровых детей того же возраста, не болевших ОРЗ в течение последних 2 месяцев перед обследованием.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Количественные признаки не имевшие нормальное распределение, описывали медианами и квартилями. Анализ количественных признаков несвязанных групп проводили с использованием непараметрического теста Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом Астраханской государственной медицинской академии.

Результаты исследования: В ходе проведенного исследования было установлено, что с нарастанием степени тяжести заболевания наблюдается достоверное увеличение концентрации основных провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов в сыворотке крови (табл.).

Таблица

Цитокиновый профиль у больных МВ, при хронической колонизации *Pseudomonas aeruginosa* (n=55)

Степень тяжести		Среднетяжелая форма	Тяжелая форма	Контроль
ИЛ				
ИЛ1β (пг/мл)	Сыворотка	35,5* (26,4-57,8)	69,8***° (53,8-121,6)	19,5 (7,9-28,5)
	мокрота	110,5 (93,6-158,9)	196,7° (106,4-310,8)	
ИЛ6 (пг/мл)	сыворотка	32,4* (23,8-67,9)	65,9***° (32,6-101,8)	20,9 (8,9-64,6)
	мокрота	198,7 (56,8-232,4)	404,5°° (101,6-618,9)	
ИЛ8 (пг/мл)	сыворотка	40,0* (32,6-78,9)	76,8***° (64,2-103,8)	13,1 (5,3-44,8)
	мокрота	614,2 (336,4-808,6)	1159,9° (367,8-1243,9)	
ИФН-γ (пг/мл)	сыворотка	101,6* (59,8-276,8)	65,9° (15,6-75,9)	51,1 (50,2-72,4)
	мокрота	380,6 (206,8-423,8)	230,8°° (59,6-243,8)	
ИЛ4 (пг/мл)	сыворотка	19,9 (5,6-28,7)	42,9***° (30,6-73,8)	14,7 (11,3-28,6)
	мокрота	104,6 (76,8-153,8)	258,9°° (131,5-308,6)	
ИЛ10 (пг/мл)	сыворотка	10,5 (5,6-20,8)	5*° (5-5)	15,3 (9,8-36,9)
	мокрота	38,8 (28,4-89,9)	93,1° (43,6-215,8)	
ИФН-α	сыворотка	8,1 (5-9,2)	14,8* (8,6-25,9)	7,4 (5-14,6)

Примечание:

*** $p < 0,001$ достоверность различий с контрольными показателями

** $p < 0,01$ достоверность различий с контрольными показателями

* $p < 0,05$ достоверность различий с контрольными показателями

°°° $p < 0,001$ достоверность различий с показателями среднетяжелой формы

°° $p < 0,01$ достоверность различий с показателями среднетяжелой формы

° $p < 0,05$ достоверность различий с показателями среднетяжелой формы

Цитокиновый профиль непосредственно в очаге поражения у больных МВ при колонизации *Pseudomonas aeruginosa*, также, отражает выраженную активацию моноцитарно-макрофагального звена иммунитета (повышение титров ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и Т-хелперов 2 типа (нарастание ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10).

По мере прогрессирования заболевания наблюдается снижение регуляторной значимости ИФН- γ . Соотношение ИФН- γ / ИЛ-4 свидетельствует о преобладании клеточного иммунного ответа при среднетяжелой форме заболевания (соотношение 5,1; в контрольной группе 3,5) и гуморального – при тяжелой форме недуга (соотношение 1,6; в контрольной группе 3,5).

Уровень ИФН- α при нарастании тяжести кистозного фиброза повышался. Известно, что стимулировать выработку ИФН- α способна РНК вирусов, а из иммунологических механизмов – повышение ИЛ-1 β . Повышение титра, на наш взгляд, вызвано нарастанием цитокиновой нагрузки, а у части больных вирусной инфекцией, которая инициировала обострение. Исследованиями последних лет доказано [5], что высокие дозы ИЛ-8 способны инактивировать противовирусную активность ИФН- α . Принимая это во внимание, становится объяснимым выявленное нами в ходе работы снижение резистентности по отношению к вирусным инфекциям у детей с МВ при нарастании тяжести заболевания, несмотря на высокие показатели ИФН- α .

Существует мнение, что у всех больных МВ определяются низкие титры ИЛ-10, что обусловлено генетической предрасположенностью. Действительно, в сыворотке крови у всех больных независимо от степени тяжести показатели были ниже, чем в контрольной группе. Анализируя тенденцию к повышению титра ИЛ-10 в очаге поражения (по результатам в мокроте) при нарастании тяжести бронхолегочного процесса, можно утверждать, что больные МВ способны к достаточно интенсивной его продукции. Однако, нарастание концентрации ИЛ-10 в мокроте происходит не так активно как других цитокинов. По всей видимости, синтез ИЛ-10 имеет определенные ограничения, что нивелирует его противовоспалительное действие. Еще одной причиной может быть снижение чувствительности клеток-мишеней к действию цитокина [7].

Представляет особый интерес результаты сравнительной характеристики содержания цитокинов у пациентов с отсутствием и наличием бронхоэктазов, при хронической синегнойной инфекции. Для больных МВ с распространенными бронхоэктазами характерно статистически значимое повышение ИЛ-1 β в сыворотке крови: 101,8 пг/мл против 46,7 пг/мл ($p=0,038$) и в мокроте 298,7 пг/мл против 151,5 пг/мл в группе без бронхоэктазов ($p=0,0016$). Параллельно отмечено повышение ИЛ-6 как в сыворотке крови: 89,6 пг/мл у пациентов с множественными бронхоэктазами против 43,4 пг/мл в группе без бронхоэктазов; так и в мокроте: 546,6 пг/мл против 283,7 пг/мл соответственно ($p=0,014$). Учитывая степень достоверности различий, высокие уровни ИЛ-1 β и ИЛ-6 косвенно свидетельствуют о наличии бронхоэктазов у детей с МВ при наличии синегнойной инфекции.

Заключение. Таким образом, в мокроте больных МВ при колонизации синегнойной палочкой определяются высокие содержание как про- так и противовоспалительных цитокинов, которые свидетельствуют о мощном иммунопатологическом процессе в бронхоальвеолярном дереве. С нарастанием степени тяжести наблюдается снижение темпов активации ИФН- γ , что может указывать на снижении клеточного иммунного ответа по Th-1 - пути. Высокие показатели ИЛ-1 β , ИЛ-6 как в сыворотке крови, так и в мокроте могут косвенно свидетельствовать о наличии бронхоэктазов, что требует дальнейшего обследования и, в случае необходимости, коррекции лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Капранов, Н.И., Каширская, Н.Ю., Воронкова, А.Ю. Муковисцидоз: современные достижения и актуальные проблемы: Методические рекомендации ГУ Медико-генетический центр РАМН. – Москва, 2008. – 123 с.
2. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Шерман В.Д. Перспективы ранней диагностики и адекватного лечения, больных муковисцидозом, в РФ // Материалы IX национального конгресса по муковисцидозу. – Москва, 2009. – С. 7-13.
3. Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., Пухальская Д.Д. Особенности воспалительного процесса у больных муковисцидозом // Пульмонология – приложение по муковисцидозу – 2006. – С. 81-83.
4. Радионович А.М. Биопленка и его потенциальная роль в патогенезе хронического бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом, инфицированных *Pseudomonas aeruginosa* // Пульмонология – приложение по муковисцидозу – 2006. – С. 106-113.
5. Романцев М.Г., Ершов Ф.И. Часто болеющие дети. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. – 349 с.
6. Berton, P., Pedron T., Coppee S. Adherence modifies the regulation of gene expression induced by IL-10 // Cytokine. – 2005. – Vol. 29 – P. 1-12
7. Farrell, P.M., Collins J., Broderick L.S. Association between Muroid *Pseudomonas* Infection and Bronchiectasis in Children with Cystic Fibrosis // Radiology. – 2009. – Vol. 252, № 2. – P. 534-543

Сергиенко Диана Фекретовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000. ул. Бакинская, 121, тел. 8(8512) 61-01-84, e-mail: gazken@rambler.ru

Башкина Ольга Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Галимзянов Халил Мингалиевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Янкина Галина Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии ФПК и ППС Сибирский государственный медицинский университет, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2. тел (3822) 53-10-12, e-mail: gal.harry@mail.ru

Шашина Мария Сергеевна, аспирант кафедры факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России.