

УДК 616.233-002-008.842.-4-07-053.2:612.017.1

Г. С. Сенаторова  
О. С. Лупальцова

Харківський національний медичний  
університет

## ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКІНОВОГО СПЕКТРУ (ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10) В ІНДУКОВАНОМУ МОКРОТИННІ У ДІТЕЙ ІЗ БРОНХІТАМИ.

**Ключові слова:** бронхіт, діти,  
фактори ризику, цитокіни.

**Резюме.** У статті наведені результати дослідження показників імунної системи в дітей із бронхітами. Серед корисних неінвазивних технологій оцінювання запального бронхолегеневого процесу в наш час визнана індукція мокротиння гіпертонічним розчином. Оцінювання цим методом запального бронхолегеневого процесу було проведено хворим на бронхіт і пневмонію. Були ідентифіковані фактори несприятливого прогнозу і трансформації бронхітів у хронічні бронхолегеневі захворювання, що включали порушення цитокінів. У Обласній дитячій клінічній лікарні м.Харкова, Україна було обстежено 73 пацієнта. Для визначення запального процесу аналіз індукованого мокротиння був виконаний в 38 хворих із бронхітом і у 35 дітей із пневмонією. Статистично достовірне підвищення рівнів інтерлейкінів (ІЛ-4, ІЛ-6) в індукованому мокротинні відзначалося у дітей з бронхітами при порівнянні з показниками дітей з пневмоніями. Локальне достовірне підвищення рівня ІЛ-10 в індукованому мокротинні було встановлено у дітей з пневмоніями, при порівнянні з показниками хворих із бронхітами. Спостерігалися достовірні сильні кореляційні зв'язки між рівнями інтерлейкінів у індукованому мокротинні і імунологічними показниками крові, зворотній характер взаємозв'язків обумовлений міграцією імунокомпетентних клітин крові у вогнище запалення для формування клітинної і гуморальної імунної відповіді. Підвищення концентрації ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 у індукованому мокротинні в дітей із бронхітами і пневмоніями, можливо використовувати у якості виявлення групи ризику у формуванні хронічної бронхолегеневої патології.

### Вступ

До теперішнього часу значна увага приділяється дослідженню цитокінового спектру індукованого мокротиння в дорослих хворих, в яких вже сформована хронічна бронхолегенева патологія. Разом із тим наукових досліджень, що висвітлюють патогенетичні механізми хронізації і формування ранніх незворотніх морфологічних бронхолегеневих змін у дітей, досі бракує. Характер перебігу і прогноз захворювань багато в чому визначає баланс між прозапальними і протизапальними цитокінами [1,2,3]. Вони залучені у всі ланки гуморальної і клітинної імунної відповіді. Порушення балансу цитокінопродуктивної активності призводить до хронізації процесу. Значна увага приділяється вивченню клінічних проявів перебігу бронхітів із застосуванням різних клінічних, біохімічних досліджень крові з визначенням рівня інтерлейкінів у сироватці крові [4,5,6,7]. Ураховуючи те, що інтерлейкіни є локальними медіатора-

ми, дослідження їх концентрації у фізіологічних середовищах більш достовірно відображає характер запального процесу. Саме тому залишаються дискусійними питання, чи є дослідження індукованого мокротиння достатньо інформативним для того, щоб бути альтернативою іншим лабораторним методам.

### Мета дослідження

Удосконалити прогноз перебігу бронхітів на основі вивчення цитокінового складу індукованого мокротиння в дітей.

### Матеріал і методи

У дослідження було включено 73 хворих дитини із бронхолегеневою патологією, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в пульмонологічному відділенні КЗОЗ «Обласної дитячої клінічної лікарні», м.Харкова. Усі діти були розподілені на групи: першу групу (1) склали хворі з гострим

простим бронхітом, гострим обструктивним бронхітом і рецидивуючим бронхітом ( $n=38$ ), середнім віком  $6,9\pm 2,4$  роки. До другої групи (2) увійшли діти з пневмоніями з гострим перебігом ( $n=35$ ), середнім віком  $8,0\pm 2,3$  роки. Обстеження складалося з визначення особливостей скарг, анамнезу, стану об'єктивного дослідження та лабораторних методів дослідження. Імунологічне дослідження крові включало визначення вмісту імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G у сироватці крові методом конкурентного імуноферментного аналізу, визначення кількості популяції та субпопуляції лімфоцитів за допомогою реакції із моноклональними антитілами (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25); рівень ЦІК методом селективної преципітації поліетіленгліколем 3,5%; з метою оцінки фагоцитарної здібності нейтрофілів крові, а зокрема визначення фагоцитарного числа та індексу; бактерицидної активності нейтрофілів оцінено за тестом із нітросинім тетразолієм (НСТ-тест). Для визначення рівня інтерлейкінів у мокротинні використовували метод індукції з використанням серійного розведення натрію хлориду. З огляду на поширеність гіперреактивності бронхів та можливість виникнення бронхоконстрикції після інгаляції гіпертонічного розчину хлориду натрію, для виключення ризику ми використовували 2,7% розчин натрію хлориду, бо саме ця концентрація викликає мінімальні клінічні прояви бронхообструкції після провокації. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням стандартних програм для персонального комп'ютера (Microsoft Excel, Statistica 6.0, „Stadia-6”, версія „Prof”)

### Обговорення результатів дослідження

З метою пошуку клінічних і лабораторних еквівалентів порушень були проаналізовані інформативні показники питомої ваги в нозологічній структурі захворювань дітей, що обстежувалися. Унаслідок аналізу виявлено, що у хворих 1-ї групи найбільша питома вага в нозологічній структурі належала гострому обструктивному бронхіту, який діагностовано у 27(71,1 $\pm$ 7,4%) хворих, у 7(18,4 $\pm$ 6,3%) дітей відмічався рецидивуючий бронхіт. Питома вага нозологій у 2-й групі була наступною: вогнищева пневмонія діагностована у 26(74,3 $\pm$ 7,4%) пацієнтів, вогнищево-зливна – у 8(22,9 $\pm$ 7,1%) хворих, сегментарна пневмонія - в 1 (2,9 $\pm$ 2,8%) дитини. Серед хронічної бронхолегеневої патології, що призвела до формування пневмофіброзу, слід зазначити хронічний бронхіт у 5(33,3 $\pm$ 12,6%) дітей 3-ї групи, персистуючу бронхіальну астму - у 5(33,3 $\pm$ 12,6%) хворих, хронічний облітеруючий бронхіоліт – у 3(20 $\pm$ 10,7%) пацієнтів, екзогенний алергічний альвеоліт в 1(6,7 $\pm$ 6,7%) дитини.

Аналіз цитокинового профілю індукованого мокротиння визначив статистично достовірне підвищення у хворих при середньотяжкому перебігу бронхітів рівнів ІЛ-4 до  $44,3\pm 6,6$  пг/мл, при порівнянні з показниками 2 групи -  $36,6\pm 7,63$  пг/мл, ( $p=0,06$ ). Відповідно значення медіан та показників нижнього й верхнього квартилю у пацієнтів 1 групи склали 47,8 (30,1; 59,3) пг/мл у хворих 2 групи - 33,9(18,6; 54,4) пг/мл. Ці зміни визначають активність цього цитокину в гострому періоді захворювання при маніфестації клінічних проявів. Враховуючи те, що ІЛ-4 стимулює синтез Ig E, диференціювання Т-лімфоцитів та дозрівання тучних клітин, індукує викид гістаміну і цілого ряду біологічно активних молекул тучними клітинами, слід зазначити, що підвищення рівню ІЛ-4 у хворих із бронхітами також відображає важливу роль цього цитокину в розвитку atopічних реакцій у пацієнтів. Безумовно, що всі ці патологічні прояви можна віднести до чинників ризику розвитку рецидивуючої та хронічної бронхолегеневої патології. Підвищення концентрації ІЛ-6 в індукованому мокротинні у хворих при середньотяжкому перебігу бронхіту до  $69,2\pm 7,01$  пг/мл, при порівнянні з відповідними показниками хворих із пневмоніями -  $51,7\pm 11,1$  пг/мл, ( $p=0,0081$ ), підтверджує роль ІЛ-6 у гострому запальному процесі, у регуляції синтезу гострофазових протеїнів та активації Т-лімфоцитів. Значення медіан, показників нижнього та верхнього квартилю у дітей 1 групи становили 69,6 (49; 85,4) пг/мл, у хворих 2 групи - 54,8(24,4; 76,3) пг/мл. Встановлено достовірне підвищення рівня ІЛ-10 у хворих при середньотяжкому перебігу пневмонії до 71,8 пг/мл, при порівнянні з відповідними показниками хворих із бронхітом - 49,9 пг/мл ( $p=0,0001$ ). Статистично значуще підвищення концентрації ІЛ-10 при тяжкому перебігу пневмонії до 72,7 пг/мл при порівнянні із показниками хворих на бронхіт 39,3 пг/мл ( $p=0,0251$ ), відображає залежність продукції цього цитокину від активності запального процесу, тяжкості перебігу захворювання та інтоксикації. Рання гіперактивація продукції ІЛ-10, за даними літератури, сприяє превалюванню процесів апоптозу над маркерами активації та є ланкою несприятливого перебігу і прогнозу при пневмоніях [2].

Нами було проведено вивчення особливостей взаємозв'язків між імунологічними показниками крові та концентрацією інтерлейкінів в індукованому мокротинні у дітей при середньотяжкому та тяжкому перебігу бронхіту і пневмонії. Слід зазначити, що в залежності від тяжкості перебігу захворювання виникають специфічні детермінанти імунологічних показників. Достовірні кореляційні зв'язки у хворих із тяжким перебігом

пневмонії відображають міграцію клітин у вогнище запального процесу і зниження компенсаторних можливостей імунної реактивності, у вигляді зниження імунологічних показників крові. Що підтверджується встановленими статистично значущими негативними кореляціями між рівнем ІЛ-6 у мокротинні і абсолютною кількістю лейкоцитів крові ( $r=-0,895833$ ,  $p<0,05$ ), між ІЛ-6 і абсолютною кількістю лімфоцитів крові ( $r=-0,75$ ,  $p<0,05$ ). Визначений негативний кореляційний зв'язок у хворих при тяжкому перебігу пневмонії між відсотковою кількістю В-лімфоцитів крові (CD22) і ІЛ-6 ( $r=-0,6375$ ,  $p<0,05$ ), і ІЛ-8 ( $r=0,720833$ ,  $p<0,05$ ) у мокротинні, вказує на дисбаланс гуморальної ланки запального процесу, що сприяє формуванню фібротичних змін. Враховуючи, що ІЛ-10 приймає участь у каскадних реакціях активації та взаємодії з комплексами антиген-антитіло та мембранами клітин, то позитивний кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-10 і комплементом СН 50 ( $r=0,955357$ ,  $p<0,05$ ) при тяжкому перебігу бронхітів, сприяє несприятливому прогнозу у вигляді порушень імунологічної толерантності. Порівняльний аналіз демонструє наявність кореляційних взаємозв'язків між рівнями ІЛ6 і ІЛ10 в індукованому мокротинні ( $r=0,617$ ,  $p<0,01$ ) у хворих при середньотяжкому перебігу пневмонії, і ( $r=0,700$ ,  $p<0,05$ ) у хворих при тяжкому перебігу пневмонії. Майже однакові кореляційні коефіцієнти вказують на участь ІЛ-10 у процесах регуляції активності дії ІЛ-6 та неадекватне гальмування синтезу ІЛ-6 при тяжкому перебігу пневмонії.

Подальший аналіз показує наявність кореляційних взаємозв'язків у хворих при середньотяжкому перебігу пневмонії відображає адекватну імунну реактивність на патогенетичний чинник. Що підтверджується позитивними кореляційними взаємозв'язками між рівнем ІЛ-10 у мокротинні і абсолютною кількістю лейкоцитів крові ( $r=0,562$ ,  $p<0,05$ ), ІЛ-10 і абсолютною кількістю Т-лімфоцитів крові (CD2) ( $r=0,538$ ,  $p<0,05$ ), ІЛ-10 і кількістю (CD4)-клітин крові ( $r=0,576$ ,  $p<0,05$ ), ІЛ-10 і співвідношенням CD4/CD8 ( $r=0,516$ ,  $p<0,05$ ). Достовірні кореляційні зв'язки між рівнем ІЛ-8 в індукованому мокротинні і абсолютною кількістю Т-лімфоцитів крові (CD2) ( $r=0,781$ ,  $p<0,05$ ), ІЛ-8 та відсотковою кількістю В-лімфоцитів крові (CD22) ( $r=0,691$ ,  $p<0,05$ ), вказують на участь ІЛ-8 у адекватній клітинній і гуморальній імунній відповіді. Що підтверджується сильними позитивними взаємозв'язками між концентраціями ІЛ-6 і ІЛ-8 ( $r=0,892$ ,  $p<0,05$ ), які відображають участь цих цитокінів у індукції гуморальної ланки імунітету, необхідної для завершення адекватної імунної відповіді на патогенетичний чинник.

Дисбаланс у продукції імунологічних клітин і їх взаємодії за допомогою інтерлейкінів обумовлюють неадекватну імунологічну реактивність на патогенетичний чинник, що призводить до можливості формування патологічної ланки запального процесу з наступним формуванням хронічного бронхолегеневого запального процесу.

### Висновки

1. Аналіз цитокінового профілю індукованого мокротиння визначив, статистично достовірне підвищення рівнів ІЛ-4 та ІЛ-6 у хворих із бронхітом із перебігом середньої тяжкості, при порівнянні з показниками хворих з пневмоніями. Що підтверджує їх роль в гострій фазі запального процесу.

2. Достовірне підвищення рівня ІЛ-10 у хворих при середньотяжкому та тяжкому перебігу пневмонії при порівнянні з відповідними показниками хворих із бронхітом відображає залежність продукції цього цитокіну від активності запального процесу і тяжкості перебігу захворювання.

3. Одержані позитивні кореляційні зв'язки між концентраціями ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 в індукованому мокротинні відображають їх роль в регуляторних механізмах, як при адекватній імунній відповіді на патогенетичний чинник так і формуванні патологічних ланок запального процесу при хронічній бронхолегеневій патології.

4. Достовірні негативні кореляційні зв'язки у хворих при тяжкому перебігу пневмонії між рівнями інтерлейкінів в індукованому мокротинні та імунологічними показниками крові вказують на зниження компенсаторних можливостей імунної реактивності у вигляді дисоціації імунологічних клітин крові у вогнище запального процесу та наступної недостатньої їх продукції.

5. Позитивні, статистично достовірні, кореляційні коефіцієнти між концентраціями інтерлейкінів в індукованому мокротинні та імунологічними показниками крові підтверджують причетність цих клітин до продукції інтерлейкінів в умовах формування запального процесу бронхолегеневої системи.

### Перспективи подальших досліджень

Буде продовжено науковий пошук у вибраному напрямі.

**Література.** 1. Куянов Л.О. Порушення системи місцевої імунологічної реактивності у хворих з хронічними обструктивними захворюваннями легень / Л.О. Куянов // Науковий вісник національного медичного університету імені О.О. Богомольця. - 2009. - №3. - С. 90-95. 2. Маркелова Е.В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях / Е.В. Маркелова, А.В. Костюшко, В.Е. Красников // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2008. - №3. - С. 24-29. 3. Охотникова Е.Н. Этот многоликий и коварный бронхообструктивный синдром / Е.Н. Охотникова // Здоров'я України. - 2011. - №3. - С. 13-22.

4.Фещенко Ю.И. Хронические обструктивные заболевания легких: проблемные вопросы / Ю.И. Фещенко //Здоров'я України.-2005.-№110.-С. 5.Шмелев Е.И. Дифференциальная диагностика интерстициальных болезней легких // Consilium medicum. - 2003. - Том 5. Ч № 4. - С.176-181. 6.Юдіна Л.В. Актуальні питання лікування пацієнтів з інфекційним загостренням хронічної обструктивної хвороби легень / Л.В. Юдіна // Здоров'я Україна.-2008.- № 3/1.- С.50-51. 7.Gribbin J. Incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in UK / J.Gribbin, R.V.Habbard, I. Le. Jeunce et al// Thorax/-2006/-Vol.61.-P.980-985.

#### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СПЕКТРА (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) В ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ У ДЕТЕЙ С БРОНХИТАМИ.

*A.C.Сенаторова, О.С.Лупальцова*

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования показателей иммунной системы у детей с бронхитами. Полезной неинвазивной технологией для оценивания воспалительного бронхолегочного процесса с недавних пор определен метод индуцирования мокроты гипертоническим раствором. Оценивание этим методом воспалительного бронхолегочного процесса было проведено у детей с бронхитами, пневмониями. Были идентифицированы факторы неблагоприятного прогноза и трансформации бронхитов в хронические бронхолегочные заболевания, включающие нарушение продукции цитокинов. В Областной детской клинической больнице, г.Харькова, Украина обследовано 73 пациента. Для определения воспалительного процесса анализ индуцированной мокроты был выполнен у 38 детей с бронхитом и у 38 пациентов с пневмонией. Достоверное повышение уровней интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-6) в индуцированной мокроте у детей было выявлено у детей с бронхитами при сравнении с показателями детей с пневмониями. Локальное достоверное повышение уровня ИЛ-10 в индуцированной мокроте отмечалось у детей с пневмониями, при сравнении с показателями детей с бронхитами. Мы наблюдали статистически сильные корреляционные связи между уровнями интерлейкинов в мокроте и иммунологическими показателями крови, обратная направленность которых связана с миграцией иммунокомпетентных клеток крови в очаг для развития воспалительного процесса с формированием клеточного и гуморального звена иммунитета. Повышение концентрации ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 в индуцированной мокроте у пациентов с бронхитами и пневмониями, можно использовать в качестве

выявления группы риска формирования хронической бронхолегочной патологии.

**Ключевые слова:** бронхит, дети, факторы риска, цитокины

#### FEATURES OF CYTOKINE PROFILE (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) IN INDUCED SPUTUM IN CHILDREN WITH BRONCHITIS

*G. S. Senatorova, O. S. Lupaltsova*

**Abstract.** This article is devoted to the investigation of immunity system characteristics in children with bronchitis. Analysis of sputum induced by inhalation of hypertonic saline has recently been established as a useful non-invasive technique for measuring airway inflammation in patients. Therefore we used this technique to evaluate the presence of airway and lung inflammation in children with the acute bronchitis, pneumonia. Factors of unfavourable prognosis and transformation of bronchitis into chronic bronchopulmonary diseases including disorders of cytokines production have been determined. 73 patients have been examined in Regional Children Clinical Hospital (RCCH), Kharkiv, Ukrainian. A study was undertaken to determine the airway and lung inflammation, by analysing cytokines in the induced sputum from 38 children with acute bronchitis and 38 patients with acute pneumonia. In children with bronchitis sputum levels of interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6) were statistically significantly increased in comparison with pneumonia subjects. Local IL-10 levels in sputum were higher in the samples of the pneumonia than in bronchitis. We observed significant strong correlations between the levels of interleukins in the sputum and levels of the blood immunology cells, the reverse correlation, which was associated with the dissociation of the immunocompetent cells to the focus airway for the development of inflammatory process with the formation of the cellular and humoral response. The increase of the IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 concentration in the induced sputum of the patients with bronchitis and pneumonia can be used for revealing the risk group of patients with chronic bronchopulmonary diseases.

**Key words:** bronchitis, children, risk factors, cytokines

**Kharkov National Medical University (Ukraine)**

*Clin. and experim. pathol.- 2013.- Vol.12, №1 (43).-P.144-147.*

*Надійшла до редакції 07.02.2013*

*Рецензент – проф. О.К.Колоскова*

*© Г.С.Сенаторова, О.С.Лупальцова, 2013*