УДК 616. 233/. 24 – 007.17 – 008.842.4 – 053.4 – 074: 612. 017. 1

Л.М. Черненко

Харківський національний медичний університет

**РІВЕНЬ IL-1ß ТА ФНП-Α В ІНДУКОВАНІЙ МОКРОТІ ПРИ БРОНХОЛЕГЕНЕВІЙ ДИСПЛАЗІЇ.**

В концепції Державної програми «Здорова дитина на 2008-2017 роки» відмічено, що охорона здоров’я дітей є пріоритетним завданням державної політики України і сучасного суспільства. Незважаючи на стрімке впровадження новітніх технологій в неонатологію, показники неонатальної смертності в Україні не зменшуються [1]. Отже зниження смертності немовлят є одним з найважливішим завданням вітчизняної педіатрії. Патологія респіраторного тракту знаходиться на провідних позиціях у структурі захворюваності дитячого населення. Анатомо-фізіологічні особливості бронхіального дерева визначають високу частоту захворювань з ураженням дрібних бронхів у дітей раннього віку та сприяє розвитку бронхолегеневої дисплазії (БЛД) [2, 3, 4, 5]. Дане захворювання є важливою причиною смертності та інвалідності серед дітей раннього віку. В 42% дітей із БЛД захворювання має хронічний перебіг з формуванням віддалених легеневих наслідків, таких як хронічний бронхіт, інтерстиціальний пневмоніт, емфізема легень, облітеруючий бронхіоліт, рецидивуючий бронхіт, пневмосклероз, бронхоектази [4, 6]. Морфологічні зміни дихальної системи під час формування бронхолегеневої дисплазії характеризуються зменшенням діаметру бронхів, метаплазією бронхіального епітелію, гіпертрофією та гіперплазією гладенької мускулатури бронхіол і бронхів, перибронхіальною гіперпластичною інфільтрацією, персистуючим інтерстиціальним набряком, інтерстиціальним фіброзом [3, 4, 7], тобто уявляє собою варіант хронічного запалення на фоні морфологічно змінених структур бронхолегеневої системи та характеризується персистенцією хронічного запалення низької інтенсивності з активацією клітинної ланки імунітету [7, 8]. Макрофаги і тучні клітини, присутні в тканинах, де виникло запалення, активуються і вивільняють різноманітні медіатори, цитокіни і хемокіни. Ключова роль в реалізації запальної реакції і в цілому реакцій першої лінії імунного захисту належить інтерлейкіну-1 (IL-1, α-і β-формах), інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-12 і фактору некрозу пухлин - α (ФНП-α) [2, 5]. Підтвердженням цього є високі концентрації в сироватці крові, хворих на бронхолегеневу дисплазію, прозапальних цитокінів (насамперед, інтерлейкін-1ß, інтерлейкін-6, 12, фактору некрозу пухлин-α). Однак, дані за рівень концентрацій зазначених цитокінів в індукованому мокротинні, ураховуючи постнатальний розвиток бронхолегеневої системи, відсутні. Крім того, тривала циркуляція та гіперпродукція цитокінів має несприятливе прогностичне значення. На цей час однією з найсуттєвіших проблем дитячої пульмонології є пошук шляхів, що дозволять загальмувати прогресування хронічного захворювання легень. Тому продовжується пошук більш чутливих, тонких маркерів подальшого враження клітин та поступового зниження функції легень. Відомо, що незалежно від типу первинного враження, легені зазнають адаптивних гемодинамічних, біохімічних, клітинних та молекулярних змін, які характеризуються «ендотеліальною травмою» і акумуляцією депозитів екстрацелюлярного матриксу в інтерстиції, що призводять до підвищення проникності мембран та ремоделювання інтерстиціальної тканини з можливим виходом у фіброз. Стан ендотелію, кількість екстрацелюлярного матриксу в інтерстиції залежить від співвідношення між продукцією та руйнуванням білків протеазами [9]. Фрагменти еластину (при деструкції екстрацелюлярного матриксу легеневої паренхіми) можуть підтримувати запалення, діючи як потужні хемостатичні агенти для макрофагів та нейтрофілів. Запускається порочне коло запалення з залученням прозапальних цитокінів, і дія протеїназ розповсюджується на більш значні ділянки легень [9, 10].

*Мета дослідження* – оцінити рівні IL-1ß ФНП-α в індукованій мокроті дітей із бронхолегеневою дисплазією.

*Матеріали й методи.*Дослідження проводилося на кафедрі педіатрії №1 і неонатології ХНМУ (зав. кафедри – д.мед.н., професор Г.С.Сенаторова) на базі Обласного центру діагностики та лікування бронхолегеневої дисплазії у дітей Харківської обласної дитячої лікарні (головний лікар – к.мед.н., доцент Г.Р.Муратов; керівник центру – к.мед.н., асистент О.Л.Логвінова).

Обстежено 68 дітей віком від 1 місяця до 3 років, серед яких у 33 пацієнтів діагностовано класичну форму БЛД (1-а група), у 18 – нову форму БЛД (2-а група), у 17 – БЛД доношених (3-я група). Діагноз бронхолегенева дисплазія був встановлений згідно міжнародній класифікації хвороб 10 перегляду (шифр Р27.0), критерії тяжкості визначалися за класифікацією клінічних форм бронхолегеневих захворювань дітей Російського респіраторного суспільства (2009 р.). Забір 0,5 мл індукованої мокроти проводився усім пацієнтам із БЛД натще після інгаляції фізіологічного розчину. Інформовану згоду батьки дітей підписували до початку дослідження. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою статистичного пакету програми Statistica 7.0. Під час оцінки відмінностей середніх для ознак з нормальним розподілом використовували критерій Стьюдента; для ознак, розподіл яких відзначався від нормального – критерії Манна-Уїтні та Краскела-Уоліса. Результати вважалися статистично вірогідними при значеннях р<0,05.

*Результати.* В індукованій мокроті дітей із різними формами БЛД, порівняно з контролем, відзначалося вірогідне підвищення рівнів інтерлейкіну-1β (рис. 1) і фактору некрозу пухлин-α (рис. 2).

Рис.1 Рівень активності IL-1ß в індукованій мокроті дітей із БЛД поза активністю основного захворювання

Рис. 2. Рівень активності ФНП-α в індукованій мокроті дітей із БЛД поза активністю основного захворювання

Під час проведення дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса статистичних характеристик зазначених цитокінів у обстежуваних дітей, було з’ясовано, що критерій Краскла-Уолліса значущий як для рівня інтерлейкіну-1β, так і для рівня ФНП-α. Під час оцінювання попарного порівняння, U-критерій Манна-Уітнінезначущий.Це дає право стверджувати, що статистичні характеристики відповідних показників різних груп статистично не відрізняється між собою, а рівень активності досліджених рівнів прозапальних цитокінів вірогідно підвищений порівняно з контролем, та не залежить від приналежності дитини із БЛД до тієї чи іншої групи.

Відсутність статистично значущих відмінностей рівня IL-1ß та ФНП-α в дітей із різними формами БЛД підкреслює, що БЛД – це хронічний процес, зумовлений морфологічними змінами бронхолегеневої системи на які нашаровується хронічний запальний процес. Саме хронічне запалення бронхоальвеолярної системи стає приводом до міграції нейтрофільних лейкоцитів, макрофагів, моноцитів, Т- і В-лімфоцитів в вогнище запалення. А вищезазначені клітини є продуцентами і головним джерелом IL-1ß в організмі [11]. IL-1ß, який уявляє собою секреторний цитокін, який здійснює свою дію як місцево, так і на системному рівні: обмеження поширення інфекції, елімінація мікроорганізмів та відновлення цілості пошкоджених тканин. Невід’ємною складовою частиною біологічної дії IL-1ß є його стимулюючий вплив на метаболізм сполучної тканини, який відбувається за рахунок проліферації фібробластів, підвищення синтезу одночасно колагену і колагенази, протеїназ різної дії [4, 7, 9, 11]. Тому було проаналізовано характер кореляційних зв’язків прозапальних цитокінів з деякими показниками системи протеїназа-інгібітор протеїназ, в ході яких були виявлені вірогідні негативні кореляційні зв’язки між рівнем IL-1ß та тоніну (r= - 0,22, р=0,05) та активністю кальпаїнів (r= - 0,22, р=0,05). Це дає право припустити, що підвищений рівень прозапального цитокіну в даному випадку виконує захисну реакцію від активності протеїназ вазоконстрикторної та апоптогенної дій. Доказом цього є вірогідний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем IL-1ß та активністю α-2-МГ (r= + 0,32, р=0,004), як головного інгібітору зазначених протеїназ.

ФНП-α – ключовий медіатор і цитокін імунної відповіді, основними продуцентами якого є активовані лімфоцитами макрофаги, які сприяють обмеженню патологічного процесу. Однак, постійна стимуляція, обумовлена персистенцією інфекції, служить хронічним антигенним стимулом і може призвести до ушкодження легеневої тканини в результаті виділення ряду речовин – активних метаболітів, протеїназ, ферментів гідролаз, монокінів [11]. В нашому дослідженні цьому доказ є виявлений вірогідний позитивний кореляційний зв’язок між рівнем ФНП-α і загальною активністю протеїназ (r= + 0,21, р=0,05) та негативний кореляційний зв’язок між рівнем ФНП-α та еластазо-інгібіторної активності α-1-ІП в сироватці крові (r= - 0,21, р=0,05).

Кількість екстрацелюлярного матриксу в інтерстиції визначається співвідношенням між продукцією й руйнуванням білків протеазами. Фіброз інтерстицію може бути наслідком зменшення активності протеїназ, можливо, завдяки порушенню балансу протеїназа-інгібітор. У зв’язку з цим було проведено аналіз кореляційних зв’язків між рівнем прозапальних цитокінів та складовими системи протеїназа-інгібітор протеїназ (рис.3)

Рис. 3. Кореляційні зв’язки між рівнем IL-1ß та ФНП-αв індукованій мокроті та показниками системи протеїназа-інгібітор протеїназ у сироватці крові дітей із бронхолегеневою дисплазією поза активністю основного захворювання\*

1. \* - подано лише статистично значущі зв’язки (р<0,05);

2. \_\_\_\_\_\_\_\_\_ прямий зв'язок, - - - - - - - - зворотний зв'язок.

Одночасність, односпрямованість та взаємозалежність вищезазначених патологічних ефектів прозапальних цитокінів й дисбалансу системи протеїназа-інгібітор протеїназ достатньо переконливо дозволили зробити припущення, спираючись на високу активність цих цитокінів в обстежуваних, що при БЛД IL-1ß та ФНП-α приймають активну безпосередню участь у патологічному процесі, який в кінцевому підсумку призводить до розвитку пневмофіброзу. Досить виразно одержані кореляційні зв’язки ілюструють активну участь цих цитокінів в провокуванні посиленого утворення мезангіального матриксу і колагену, що також сприяє експансії екстрацелюлярного матриксу і призводить до фіброзу інтерстицію [3, 11]. Наявність позитивного зв’язку між ЕЕл крові і IL-1ß в індукованій мокроті доводить участь цього цитокіну в формуванні структурних змін судин, зменшенні еластичності волокон, підвищенні жорсткості.

*Висновок.* У дітей із бронхолегеневою дисплазією має місце значне підвищення рівнів прозапальних цитокінів в індукованій мокроті й дисбаланс системи протеїназа-інгібітор протеїназ в сироватці крові, що спричиняє накопичення екстрацелюлярного матриксу та активацію фібротичних процесів у легенях.

**Черненко Л.М.**

**Харківський національний медичний університет**

**РІВЕНЬ IL-1ß ТА ФНП-α В ІНДУКОВАНІЙ МОКРОТІ**

**ПРИ БРОНХОЛЕГЕНЕВІЙ ДИСПЛАЗІЇ**

**Резюме.** Бронхолегенева дисплазія – одна із актуальних проблем педіатрії, значення якої виходить за межі неонатології і розглядається як хронічне обструктивне захворювання дітей раннього віку. Представлені дані досліджень рівнів IL-1ß ТА ФНП-α в індукованій мокроті у призмі залученості у патологічний процес системи протеїназа-інгібітор протеїназ.

**Ключові слова:** бронхолегенева дисплазія, прозапальні цитокіни, хронічне запалення.

**Черненко Л.Н.**

**Харьковский национальный медицинский университет**

**УРОВЕНЬ IL-1ß И ФНП-α В ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ**
**Резюме.** Бронхолегочная дисплазия - одна из актуальных проблем педиатрии, значение которой выходит за пределы неонатологии и рассматривается как хроническое обструктивное заболевание детей раннего возраста. Представлены данные исследования уровней IL-1ß и ФНО-α в индуцированной мокроте в призме вовлеченности в патологический процесс системы протеиназа-ингибитор протеиназ.

**Ключевые слова:** бронхолегочная дисплазия, провоспалительные цитокины, хроническое воспаление.

**Chernenko L.M.**

**Kharkov State Medical University.**

**Level IL-1ß and TNF-α in sputum induced of bronchopulmonary dysplasia**
**Summary.** Bronchopulmonary dysplasia - one of the pressing problems of Pediatrics, whose significance goes beyond the neonatal and is regarded as a chronic obstructive disease of young children. The data research levels IL-1ß and TNF-α in induced sputum in the prism of involvement in the pathological process of рroteinase-proteinase inhibitor.

**Key words:** bronchopulmonary dysplasia, proinflammatory cytokines, chronic inflammation.

 **Список літератури.**

1. *Бережной В.В.* Здоровье детей Украины: актуальные проблемы и пути их решения */* Бережной В.В., Майданник В.Г., Шунько Е.Е., Крамарев С.А.и др. // Здоров’я України. - №107. – листопад 2004. – С. 30-34.
2. *Давыдова И.В.* Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей / Давыдова И.В. // автореф. дисс. …докт.мед.наук. М., 2010.
3. *Козарезов С. Н.* [Современные представления о бронхолегочной дисплазии у детей (часть 2)](http://www.bsmu.by/index.php?option=com_content&view=article&id=40:--&catid=35:s-42007&Itemid=52) / Козарезов С. Н. // Медицинский журнал. – 2007. - №4.
4. *Овсянников Д.Ю.* Система оказания медицинской помощи детям, страдающим бронхолегочной дисплазией / Овсянников Д.Ю., Кузьменко Л.Г. // Руководство

для практикующих врачей. – Москва. – 2010. – С. 151.

1. *Овсянников Д.Ю.* Течение бронхолегочной дисплазии у детей грудного и раннего возраста / Овсянников Д.Ю., Кузьменко Л.Г., Дегтярева ЕА. и др. // Педиатрия. – 2007. – 86 (4). – С. 35-42.
2. *Сенаторова А.С.* Бронхолегочная дисплазия у детей / Сенаторова А.С., Логвинова О.Л., Черненко Л.Н., Муратов Г.Р. // Здоров’я України. - №1 (16). – березень 2011. – С.36-38.
3. *Шишко Г.А.* Современные подходы к ранней диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии / Шишко Г.А., Устинович Ю.А. // Учебно-методическое пособие для врачей. – Минск. – 2006. – С. 31.
4. *Сенаторова А.С.* Бронхолегочная дисплазия у детей. Современный взгляд на проблему диагностики и лечения / Сенаторова А.С., Логвинова О.Л., Муратов Г.Р., Золотухина Г.А., Черненко Л.Н. // Современная педиатрия. - № 1 (29). –– 2010. - С.105-112.
5. *Веремеенко К.Н.* Протеолиз в норме и при патологии / Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. // Киев. – Здоровье. – 1988. – С.198.
6. *Веремеенко К.Н.* Протеолитические ферменты и апоптоз / Веремеенко К.Н., Досенко В.Е., Нагибин В.С. // Український біохімічний журнал. – 2003. – Т.75. - №6. – С. 10-24.
7. [*Кетлинский С.А.*](http://www.ozon.ru/context/detail/id/3764061/#tab_person)Цитокины /  [Кетлинский С. А., Симбирцев](http://www.ozon.ru/context/detail/id/3764061/#tab_person) А. С. Монография. – Изд. Фолиант. – 2008. – С.552.