

УДК 616.22/.235-002-036.11+612.017.1

## ПОКАЗАТЕЛИ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА ПРИ ОСТРОМ ОБСТРУКТИВНОМ ЛАРИНГИТЕ И ОСТРОМ БРОНХИОЛИТЕ У ДЕТЕЙ

Белан Ю.Б., Старикович М.В., Голочалова С.А., Безрукова Л.А.

*Омская государственная медицинская академия, Омск*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

**Интерферон- $\gamma$  играет важную роль в формировании врожденного и приобретенного иммунитета. Образование стимулированного фитогемагглютинином  $\gamma$ -IFN значительно снижено при респираторно-синцитиальной моноинфекции и главным образом, при сочетании аденовирусной инфекций с *Chl. pneumoniae* и респираторно-синцитиальной инфекции с *M. pneumoniae*, по сравнению с микоплазменной моноинфекцией. Низкий уровень  $\gamma$ -IFN ассоциируется с более тяжелым течением острого обструктивного ларингита и острого бронхолита. Таким образом, уровень  $\gamma$ -IFN зависит от этиологического фактора и определяет степень тяжести острого обструктивного ларингита и острого бронхолита.**

Наибольший вклад в формирование суммарного экономического ущерба по-прежнему вносит заболеваемость гриппом и острыми респираторными инфекциями, составляющая 88,8% от всех инфекционных заболеваний, что свидетельствует о лидирующей роли этой патологии в оценке медицинских, социальных и экономических последствий для общества [1].

Острый обструктивный ларингит и острый бронхолит нередко сопровождаются острыми респираторными инфекциями вызванными вирусом парагриппа (HPIV), гриппа (IFV), респираторно-синцитиальным вирусом (RSV), аденовирусом (AdV) и риновирусом (HRV) у детей в возрасте от 6 мес. до 6 лет, встречающиеся с частотой от 10% до 30% [9, 15]. Показано, что у 23-50% детей после перенесенного острого бронхолита и при рецидивировании острого обструктивного ларингита наблюдается трансформация в хронические обструктивные и аллергические заболевания дыхательных путей [4, 6, 7].

Иммунный ответ организма на вирусную инфекцию представляет собой комплексный процесс, в который вовлечено множество клеток, цитокинов и медиаторов. Противовирусный иммунитет, в

ранний период инфекции, реализуется за счет активации  $\alpha/\beta$ -интерфероном ( $\alpha/\beta$ -IFN) цитотоксических лимфоцитов CD8+, которые взаимодействуют с фрагментами вирусных белков ассоциированных с МНС I класса посредством Т-клеточных рецепторов, а также NK-клеток не имеющих маркеров зрелых Т- и В-лимфоцитов, распознающих инфицированные клетки неэкспрессирующие компоненты МНС. Активированные цитотоксические лимфоциты CD8+ и NK-клетки являются важным источником продукции  $\gamma$ -интерферона ( $\gamma$ -IFN), основного фактора противовирусной защиты. Интерфероны не только подавляют вирусную репликацию, за счет инициации экспрессии МНС I класса и активации CD8+ Т-лимфоцитов, но также посредством  $\gamma$ -IFN оказывают не менее важный иммунокорректирующий эффект, заключающийся в инициации образования МНС II класса на антигенпрезентирующих клетках, с последующей активацией CD4+ Т-лимфоцитов, и регуляции баланса между Th1 и Th2 субпопуляциями лимфоцитов.

Несмотря на распространенность респираторных вирусных инфекций, цитокиновый ответ при этих заболеваниях изучен недостаточно, особенно роль низкого

уровня  $\gamma$ -IFN в формировании обструктивных проявлений ОРВИ.

**Целью настоящей работы** явилась оценка уровня спонтанного и стимулированного  $\gamma$ -IFN с учетом этиологического фактора в ранние сроки развития острого обструктивного ларингита и острого бронхоолита.

#### **Материал и методы**

Под наблюдением находилось 126 детей с острым обструктивным ларингитом и острым бронхоолитом, средний возраст которых составил 17,3 месяца, 95% ДИ (15,28; 19,32). По результатам кластерного анализа доминирующих клинических симптомов все обследованные дети были разделены на 3 группы: первую группу составили дети с острым обструктивным ларингитом; вторую - дети с острым обструктивным ларингитом сочетающимся с обструктивным бронхитом; третью – дети с острым бронхоолитом.

Критерии включения больных в исследование: наличие острого обструктивного ларингита, острого обструктивного ларингита в сочетании с обструктивным бронхитом, острого бронхоолита; возраст от 1 мес. до 3-х лет, включительно; обращение за медицинской помощью в 1-4-ый дни заболевания; отсутствие у больных хронической патологии и врожденных пороков развития трахеобронхиального дерева; завершённые случаи заболевания – в результате лечения было зарегистрировано выздоровление.

Критерии исключения: возраст детей старше 3 лет; обращение за медицинской помощью позднее 4 дня от начала заболевания; осложнения обусловленные наслоением бактериальной флоры (пневмония, отит, синусит и т.д.); наличие хронической патологии и врожденных пороков трахеобронхиального дерева, в том числе и врожденный стридор; регулярное применение антигистаминных, бронходилатирующих или гормональных лекарственных препаратов, а также применение до поступления в стационар иммунокорректирующих средств.

Степень стеноза гортани при остром обструктивном ларингите оценивалась во время осмотра ребенка, по бальной шка-

ле С.Р. Westley (1978). Оценка состояния больного с острым бронхоолитом при поступлении в стационар и после проведения ингаляционной терапии (беродуал или сальбутамол) и/или подачи увлажненного кислорода, проводилась на основании данных «Респираторного листа». Степень тяжести бронхоолита оценивалась в соответствии с бальной шкалой предложенной Е. Kerem et al. (1991), в модификации К.М. Giugno et al. (2004).

Для одновременной регистрации IgM и IgG к основным этиологическим агентам инфекционных заболеваний респираторного тракта (*Legionella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Chlamydomphila Burnetti*, *Adenovirus*, *Respiratory syncytial virus*, *Influenza virus A* и *B*, *Parainfluenza virus 1*, *2*, *3*), в сыворотке крови, использовались коммерческие тест-наборы реактивов для непрямого иммунофлюоресцентного исследования PNEUMOSLIDE IgM и IgG (Vircell S.L., Испания). Определение показателей интерферонового статуса (спонтанный и стимулированный  $\gamma$ -IFN) проводили с использованием набора реагентов ProCon IFgamma производства ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург), методом твердофазного иммуноферментного анализа, путем выделения лимфоцитов из венозной крови с антикоагулянтом (гепарин), с помощью градиента – фенолверографина, после 3-х кратного отмывания до получения концентрации клеток 10<sup>6</sup> /мл, митоген-индуцированный  $\gamma$ -IFN – под действием фитогемагглютинаина (ФГА).

Для статистического анализа был использован метод случайного отбора больных в соответствии с критериями включения и исключения в исследуемую группу, что определяло репрезентативность выборки. При статистической обработке материала был применен кластерный анализ, ранговый дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, корреляционный анализ. Оценка уровня интерферонов в сыворотке крови здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу с исследуемыми группами, была выполнена с позиций доказательной медицины на основе систематического обзора и мета-анализа

ранее опубликованных 10 рандомизированных исследований с помощью программы Comprehensive Meta-analysis 2.2.027. Статистический анализ проведен на персональном компьютере с использованием коммерческой прикладной программы Statistica 6.0 для Microsoft Windows фирмы StatSoft.

#### Результаты исследования и их обсуждение

У человека  $\gamma$ -IFN является кофактором, обеспечивающим активацию антигенпрезентирующих клеток, и дальнейший синтез этими клетками IL-12 непосредственно направляющего дифференцировку Th0-лимфоцитов в Th1-лимфоциты, обес-

печивающих противовирусный иммунный ответ посредством образования IL-12 и  $\gamma$ -IFN [10].

Уровень спонтанного  $\gamma$ -IFN при остром обструктивном ларингите и остром бронхолите не имел достоверного отличия от показателей здоровых детей ( $25,6 \pm 2,0$  пкг/мл). Это подтверждает данные о том, что у детей раннего возраста динамика образования эндогенного интерферона значительно ниже по сравнению с уровнем спонтанного  $\gamma$ -IFN в сыворотке крови взрослых доноров ( $148,3 \pm 11,8$  пкг/мл) [2].

**Таблица 1.** Интерфероновый статус у детей с обструктивными осложнениями ОРВИ (M $\pm$ m)

$\gamma$ - IFN (пкг/мл)	Группы		
	I (n=24)	II (n=19)	III (n=18)
спонтанный	28,1 $\pm$ 4,1	29,9 $\pm$ 6,1	23,0 $\pm$ 2,9
стимулир. ФГА	386,4 $\pm$ 62,8	457,8 $\pm$ 85,8 *	53,8 $\pm$ 6,3 **

Примечание:

\* - достоверность отличия показателей II и III групп,  $p < 0,05$ ;

\*\* - достоверность отличия показателей III и I групп,  $p < 0,05$ ;

Уровень стимулированного  $\gamma$ -IFN был достоверно снижен во всех исследуемых группах по сравнению с показателем контроля, составившим –  $861,5 \pm 7,6$  пкг/мл (табл. 1). При остром бронхолите наблюдалось более выраженное уменьшение образования стимулированного  $\gamma$ -IFN –  $53,8 \pm 6,3$  пкг/мл, по сравнению с уровнем данного показателя в I и II группах –  $386,4 \pm 62,8$  и  $457,8 \pm 85,8$  пкг/мл, соответственно ( $p = 0,000$ ).

По мнению С.С. Copenhagen et al. (2004), недостаточное образование спонтанного и стимулированного  $\gamma$ -IFN у детей раннего возраста предрасполагает к тяжелому течению и повторному инфицированию респираторными вирусами и может являться неспецифическим маркером неадекватного противовирусного иммунитета [5]. Это подтверждает выявленное нами уменьшение концентрации стимулированного  $\gamma$ -IFN при нарастании стеноза гортани

при остром обструктивном ларингите и степени тяжести острого бронхолита, а также обратная корреляционная связь между тяжестью острого бронхолита и уровнем стимулированного  $\gamma$ -IFN ( $r = -0,530$ ,  $p = 0,000$ ).

При стенозе гортани I степени наблюдалось уменьшение образования стимулированного  $\gamma$ -IFN ( $646,8 \pm 82,6$  пкг/мл), по сравнению с показателем здоровых детей. При стенозе гортани 2 и 3 степени способность к образованию стимулированного  $\gamma$ -IFN была значительно ниже –  $317,3 \pm 62,3$  и  $182,4 \pm 70,7$  пкг/мл, соответственно, по сравнению с данными при стенозе гортани I степени ( $p = 0,003$  и  $p = 0,001$ ).

При остром бронхолите средней тяжести показатели спонтанного  $\gamma$ -IFN и способность к продукции стимулированного  $\gamma$ -IFN были достоверно ниже по сравнению с контролем, и составили –  $19,7 \pm 2,5$

и  $56,8 \pm 7,2$  пг/мл, соответственно. При тяжелом течении острого бронхолита отмечалось выраженное угнетение образования стимулированного  $\gamma$ -IFN -  $45,8 \pm 13,1$  пг/мл, по сравнению с данными контроля. Корреляционный анализ позволил выявить обратную связь между степенью тяжести острого бронхолита и количеством стимулированного  $\gamma$ -IFN ( $r = -0,530$ ,  $p = 0,000$ ).

По данным нашего исследования установлено доминирование в этиологии острого обструктивного ларингита и острого бронхолита более чем в половине случаев (57,4%) ассоциации респираторных вирусов с *M. pneumoniae* или *Chl. pneumoniae*, а также респираторно-синцитиальной и микоплазменной моно-

инфекций, что безусловно, оказывало специфическое влияние на иммунную систему, и в частности на показатели интерферонового статуса.

На фоне микст-инфекций респираторно-синцитиального вируса с *M. pneumoniae* (RSV+Mp) и аденовируса с *Chl. pneumoniae* (AdV+Chl), а также респираторно-синцитиальной моноинфекции показатели стимулированного  $\gamma$ -IFN были значительно ниже -  $67,3 \pm 9,9$  пг/мл,  $169,3 \pm 70,8$  и  $370,5 \pm 103,4$  пг/мл соответственно, по сравнению с микоплазменной моноинфекцией -  $687,8 \pm 69,3$  пг/мл ( $p = 0,000$ ,  $p = 0,000$  и  $p = 0,008$ ).

**Таблица 1.** Интерфероновый статус в зависимости от этиологического фактора ( $M \pm m$ )

$\gamma$ - IFN (пг/мл)	Подгруппы			
	1 (n=13)	2 (n=10)	3 (n=21)	4 (n=6)
	Mp	RSV	RSV+Mp	AdV+Chl
спонтанный	$22,3 \pm 5,5$	$4,9 \pm 10,3$	$20,1 \pm 2,3$	$39,5 \pm 5,6$
стимулир. ФГА	$687,8 \pm 69,3^*$	$370,5 \pm 103,4$	$67,3 \pm 9,9^{**}$	$169,3 \pm 70,8^{\#}$

Примечание:

\* - достоверность различий показателей 1 и 2 подгрупп,  $p < 0,05$ ;

\*\* - достоверность различий показателей 1 и 3 подгрупп,  $p < 0,05$ ;

# - достоверность различий показателей 1 и 4 подгрупп,  $p < 0,05$ .

Была отмечена и обратная корреляционная связь между уровнем стимулированного  $\gamma$ -IFN и сочетанием респираторно-синцитиального вируса с *M. pneumoniae* ( $r = -0,521$ ,  $p = 0,000$ ).

Установленные нарушения интерферонового статуса при остром обструктивном ларингите и остром бронхолите являются наглядным отражением неполноценного Th1 звена иммунной системы, а именно снижения синтеза стимулированного  $\gamma$ -IFN.

Выявленный дисбаланс может располагать: во-первых, к персистенции респираторных вирусов, *M. pneumoniae* и *Chl. pneumoniae* в эпителии трахеобронхиального дерева [3, 12]; во-вторых, к доминированию Th2 звена иммунной системы с образованием вирусспецифических IgE [8, 11]; в-третьих, к

хроническому иммуновоспалительному процессу в легочной ткани, за счет активации синтеза NF- $\kappa$ B и повышенной продукции TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, ICAM-1, TGF- $\beta$  и GM-CSF [13, 14], а значит возможному формированию бронхиальной гиперреактивности и ремоделированию трахеобронхиального дерева.

#### Выводы

1. Количество спонтанного  $\gamma$ -IFN при остром обструктивном ларингите и остром бронхолите достоверно не отличается от уровня данного показателя у здоровых детей.

2. Острый обструктивный ларингит и острый бронхолит, вызванные респираторно-синцитиальным вирусом, *M. pneumoniae*, ассоциациями респираторно-синцитиального вируса с *M. pneumoniae* и аденовируса с *Chl pneumoniae* сопровож-

даются снижением образования стимулированного  $\gamma$ -IFN.

3. Микст-инфекции, обусловленные сочетанием респираторно-синцитиального вируса с *M. pneumoniae* и аденовируса с *Chl. pneumoniae*, а также респираторно-синцитиальная моноинфекция характеризуются более низкими показателями стимулированного  $\gamma$ -IFN, по сравнению с микоплазменной моноинфекцией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Малеев В.В., Покровский В.И. // Тер. архив. 2004. №4. С. 5.
2. Собчак Д.М., Корочкина О.В. // Тер. архив. 2005. №11. С. 23.
3. Blasi F. // Eur Respir J. – 2004. – Vol.24. – P. 171.
4. Bont L., Aalderen W.M., Kimpen J.L. // Paediatr Respir Rev. 2000. №1. Vol.3. P. 221.
5. Copenhaver C.C., Gern J.E., Li Z. [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2004. №170. P. 175.
6. Culley F.J., Pollott J., Openshaw P.J.M. // The J of Exp Med. 2002. - №10, Vol.196. P. 1381.
7. Díaz P.V., Calhoun W.J., Hinton K.L. [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. №4. Vol.160. P. 1157.
8. Dakhama A., Park J.-W., Taube C. [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2004. Vol.170. P. 952.
9. Henrickson K.J. // Clinical Microbiology Reviews. 2003. №2. Vol.16. P. 242.
10. Herring A.C., Hernández Y., Huffnagle G.B., Toews G.B. // Semin Respir Crit Care Med. – 2004. - № 25, Vol.1. – P. 3.
11. Holt P.G., Sly P.D. // Eur Respir J. 2002. Vol.19. P. 538.
12. Hogg J.C. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001. №10. Vol. P. 71.
13. Keicho N., Higashimoto Y., Bondy G.P. [et al.] // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 1999. Vol.277. P. 523.
14. Kim J., Kim S.W., Park C.S. [et al.] // The J of Immunol. 2000. Vol.165. P. 3384.
15. Leung A.K., Kellner J.D., Johnson D.W. // J Pediatr Health Care. 2004. №18. Vol.6. P. 297.

**INTERFERONS PRODUCTION AT EARLY TIME TO THE DEVELOPMENT OF CROUP AND ACUTE BRONCHIOLITIS IN CHILDREN**

Belan Yu.B., Starikovich M.B., Golochalova S.A., Bezrukova L.A.

*Omsk State Medical Academy, Omsk*

Interferon- $\gamma$  is a cytokine that plays a major role in the amplification of both innate and acquired immune responses. PHA-induced interferon- $\gamma$  responses were decreased significantly during RSV infections and the majority of the combination adenoviral infections with *Chl. pneumoniae* and RSV with *M. pneumoniae*, in comparison with *M. pneumoniae* infection. Low interferon- $\gamma$  responses were associated with a more severe clinical course of croup and acute bronchiolitis. This indicates that depending on the nature of the viral pathogen, respiratory virus infections in infants differ significantly with regard to the quantity of the interferon- $\gamma$  production and that this may contribute to the clinical course of croup and acute bronchiolitis.

