

УДК 616.921.8:612.017.1

Епифанцева Н.В.

**УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ ПРИ КОКЛЮШЕ У ДЕТЕЙ ЗАБАЙКАЛЬЯ.****ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г.Чита**

*У 62 детей с осложненным и неосложненным коклюшем исследованы некоторые показатели провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Установлено, что течение как осложненной, так и неосложненной коклюшной инфекции сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-1RA, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ), низким уровнем противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-10).*

**Ключевые слова:** коклюш, цитокины, иммунитет, дети.

*Epifanceva N.V.***CYTOKINE LEVEL IN CHILDREN WITH PERTUSSIS IN ZABAİKALYE**

*Some parameters of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines were studied in 62 children with complicated and non-complicated pertussis. Complicated and non-complicated pertussis were found to be accompanied by hyper production of pro-inflammatory cytokines (IL- 1 $\beta$ , IL-1RA, IL-8, TNF-  $\alpha$ ) and low levels of anti-inflammatory interleukins (IL-4, IL-10).*

**Key words:** pertussis, cytokines, immunity, children

Коклюш - острое инфекционное заболевание, вызываемое *B. pertussis*, передающееся воздушно-капельным путем, характеризующееся циклическим течением и наличием судорожного приступообразного кашля [8]. В довакцинальный период наблюдалось повсеместное распространение коклюша и характеризовалось тяжестью течения и высокой летальностью, особенно тяжело заболевание протекало у детей раннего возраста. После внедрения вакцинации заболеваемость уменьшилась в 25 раз, летальность - в тысячу раз, как в России, так и за рубежом [11]. На сегодняшний день коклюш вновь приобрёл свою актуальность, за счёт роста заболеваемости, в том числе и среди детей дошкольного и младшего школьного возраста, несмотря на полный курс вакцинации. По данным ВОЗ, в мире ежегодно заболевает коклюшем около 60 млн. человек, около 1 млн. детей умирает [3,4]. Болеют чаще дети до года, при этом в равной мере дети как 6 - 12 мес, так и первого полугодия жизни. По данным ГУ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, среди причин летальности коклюш как моноинфекция составляет 10,5% [5,6]. Примерно у 2/3 больных наблюдается относительно

благоприятное течение, у других заболевание протекает с развитием осложнений, чаще пневмоний [4,7]. Осложнения преимущественно встречаются у детей первого года жизни. Развитие осложнений связано, в первую очередь, с неэффективностью иммунного ответа, в том числе и против вторичной бактериальной флоры. В формировании недостаточности иммунной системы при коклюше важную роль играет изменение баланса цитокинов, продуцируемых Т-хелперами I и II типов [4,13].

Цитокины - продуцируются клетками иммунной системы в ответ на действие антигенов. Выделяют цитокины врождённого иммунитета (ИЛ-1, ИЛ-1RA, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10), секретирующиеся в основном вспомогательными клетками и адаптивного иммунного ответа (ИЛ-4, ИЛ-2, ИНФ- $\alpha$ ), продуцирующиеся Т-хелперами 1 и 2 типов [2]. В случае активации Т-хелперов 1 типа преобладает клеточный иммунитет, наиболее эффективный при внутриклеточном паразитировании. Для микроорганизмов с внеклеточным действием наиболее эффективным является гуморальный иммунитет, который запускается в результате активации Т-хелперов 2 типа [3].

Учитывая, что коклюш в современном мире вновь приобрёл свою актуальность, интерес к изучению данного заболевания, в том числе и иммунопатогенеза, возрос как среди российских, так и зарубежных исследователей. Имеются данные по изучению уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. По результатам одних авторов отмечается увеличение уровня ИЛ-4 и снижение ИЛ-10 [3], по данным зарубежной литературы наблюдается снижение ИЛ-4 и ИЛ-10 [13]. Что же касается провоспалительных цитокинов, то определяется повышение концентрации ИЛ-2, ИНФ- $\gamma$ , особенно при осложнённом пневмонией течении [3].

Так как *Bordetella pertussis* является внеклеточным паразитом, то основную роль в развитии защитных реакций играют Т-хелперы второго типа, продуцирующие, в той или иной степени, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-1 $\beta$ . При этом в 30% случаев заболевание осложняется пневмонией в результате присоединения бактериальной флоры, как возможного следствия низкой эффективности иммунитета. А у детей до года, проживающих в Забайкалье, отмечается незрелость Т-звена иммунитета [1].

В задачу настоящего исследования входило изучение содержания провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-1RA, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови больных коклюшем с неосложнённым и осложнённым пневмонией течением в разных возрастных группах детей Забайкалья.

#### Материалы и методы

Под наблюдением находилось 62 ребенка, больных коклюшем, находившихся на лечении в Краевой детской инфекционной больнице, г. Чита. Диагноз коклюш определялся на основании клинико-эпидемиологических (контакт с больными коклюшем; характерный приступообразный кашель, преимущественно в ночное время, наличие репризов и т.д.) данных и лабораторных (данные гемограммы - лейкоцитоз лимфоцитарного характера, моноцитоз; бактериологическое и серологи-

ческое исследования) показателей. Серологически, методом реакции агглютинации, диагноз коклюш был подтверждён в 64,8%. Первую группу составили дети от 1 до 12 мес. (44 ребёнка), из которых у 24 детей имело место неосложнённое течение и у 20 - осложнённое пневмонией. Вторую группу составили дети в возрасте от 1 года до 6 лет (18 детей) с благоприятным течением. Полный курс вакцинации АКДС пройден у 45% всех заболевших, при этом дети до года составили всего 14%. Контрольную группу 20 чел. составили условно здоровые дети: 10 - до года и 10 - от 1 до 6 лет.

Определение концентрации провоспалительных, противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием реактивов ООО "Вектор-Бест" (г. Новосибирск).

Полученные результаты обработаны с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 2007, с определением статистической значимости различий при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$  с использованием критерия Стьюдента (t-теста).

#### Результаты и обсуждения.

Установлено, что у детей с коклюшной инфекцией имеет место изменение концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Так, концентрация ИЛ-1 $\beta$  превышала уровень здоровых детей в 3 раза как при неосложнённом, так и при осложнённом течении коклюша. Показатели ИЛ-1RA при благоприятном течении повышались в 3,5 - 4 раза, в случае развития пневмонии содержание ИЛ-1RA оказалось выше нормы всего в 2,7 раза и составило  $869,4 \pm 124,1$  пкг/мл ( $p < 0,01$ ). Так же отмечался подъём ФНО- $\alpha$  в 4-4,5 раза и хемокина ИЛ-8 в 2-2,5 раза. Что же касается противовоспалительных цитокинов, то уровень ИЛ-4 у детей до года, независимо от течения заболевания, существенно не отличался от группы контроля ( $p > 0,05$ ). У больных старше года отмечается снижение концентрации ИЛ-4 в 1,5 раза. Уровень ИЛ-10 превышал норму примерно в 2 - 5 раз, в зависимости от возраста.

В случае сравнения продукции цитокинов

среди детей до года, с осложнённым и неосложнённым течением, определялась более низкая концентрация ИЛ-1RA при наличии пневмонии. При сравнении же концентрации цитокинов в зависимости от возраста статистически значимой разницы не определялось.

При коклюше важную роль имеет соотношение цитокинов, особенно в случае развития пневмонии. У детей на фоне заболевания, независимо от наличия осложнений, отмечалась высокая концент-

**Уровень цитокинов у больных коклюшем с осложнённым и неосложнённым течением (M ±SD)**

Цитокины	Здоровые, n=20		Дети до года, n=44		Старше года, n=18 (пкг/мл)
	Дети до года, n=10 (пкг/мл)	Старше года, n=10 (пкг/мл)	Осложнённое течение, n=20 (пкг/мл)	Неосложнённое течение, n=24 (пкг/мл)	
ИЛ-1β	4,4±0,5	5,4±0,7	15,09±1,8 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>4</sub> >0,05	14,8±1,15 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> >0,05	17,5±2,3 p <sub>2</sub> <0,001
ИЛ-1RA	351,4±42,5	372,2±42,1	869,4±124,1 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,01	1312,9±118,3 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> >0,05	1314,6±84,8 p <sub>2</sub> <0,001
ИЛ-4	1,41±0,17	2,19±0,24	1,55±0,21 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>4</sub> >0,05	1,4±0,12 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>3</sub> >0,05	1,42±0,22 p <sub>2</sub> <0,05
ИЛ-8	10,24±0,46	8,06±0,47	20,45±3,2 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>4</sub> >0,05	24,64±7,9 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>3</sub> >0,05	18,11±3,1 p <sub>2</sub> <0,05
ИЛ-10	1,06±0,28	1,49±0,19	1,89±0,17 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>4</sub> >0,05	5,36±2,39 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>3</sub> >0,05	3,1±0,51 p <sub>2</sub> <0,05
ФНО-α	2,26±0,42	2,64±0,47	10,38±1,32 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>4</sub> >0,05	9,58±0,96 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> >0,05	11,76±1,27 p <sub>2</sub> <0,001

p<sub>1</sub> - статистическая значимость различий показателей цитокинов у больных коклюшем с осложнённым и неосложнённым течением и группой контроля в возрасте до года;

p<sub>2</sub> - статистическая значимость различий показателей цитокинов у больных коклюшем с осложнённым и неосложнённым течением и группой контроля старше года;

p<sub>3</sub> - статистическая значимость различий показателей цитокинов у больных коклюшем с неосложнённым течением детей до года и группой старше года;

p<sub>4</sub> - статистическая значимость различий показателей цитокинов у больных до года с осложнённым течением и неосложнённым течением

рация провоспалительных цитокинов, что согласуется с данными литературы [3, 4]. При этом уровень ИЛ-1β максимально продуцировался при осложнённом пневмонией течении. Что же касается противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10), то результаты исследований разноречивы. ИЛ-4 продуцируется Th-2 типа и является единственным цитокином стимулирующим продукцию ИЛ-1RA, реализуя таким образом противовоспалительный эффект. Также ИЛ-4 способствует синтезу ИЛ-10, с которым они вместе оказывают ингибирующее действие на

клетки, продуцирующие провоспалительные цитокины (ИЛ-8, ИЛ-1β и ФНО-α) и стимулируют активацию гуморального иммунитета. Работа гуморального иммунитета играет ведущую роль в борьбе с *V. pertussis*. В результате наших исследований установлено, что продукция ИЛ-4 не превышала показателей здоровых детей, а в группе старше года уровень ИЛ-4 оказался даже ниже нормы, показатели же ИЛ-10 повышались, при этом более значительно при неосложнённом течении. Это может способствовать заболеванию коклюшем детей старшего возраста, длительной

персистенции *V. pertussis* (2-3 недели) и развитию бактериальных осложнений. Концентрация провоспалительных цитокинов, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-8 определялась высокая. Данные цитокины продуцируются тканевыми макрофагами в месте внедрения возбудителя, создавая первичный очаг воспаления, что способствует нераспространению и элиминации бактерий. В случае развития пневмонии, в результате присоединения бактериальной флоры, также наблюдалась значительная концентрация ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ . При этом, уровень ИЛ-1RA значительно ниже, чем при неосложнённом течении, что в комплексе с низкими показателями противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) оказало действие не только на развитие, но и более длительное течение заболевания.

#### Выводы:

1. У больных коклюшем как с осложнённым, так и неосложнённым течением наблюдалась гиперпродукция провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  и рецепторного антагониста ИЛ-1.
2. Уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов не зависит от возраста.
3. В случае развития пневмонии наблюдается низкий уровень ИЛ-1RA и противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, ИЛ-4 на фоне высокой концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-8.
4. У детей Забайкальского края наблюдается низкая концентрация ИЛ-4, продуцируемого Th-2 типа, что может способствовать формированию слабого гуморального ответа и развитию коклюша у привитых детей, более длительному и тяжёлому течению с осложнениями.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бутыльский А.Н. Особенности иммунитета и гемостаза у здоровых и ВИЧ-инфицированных жителей Читинской области: Автореферат дис.. Чита, 2007. 21с.
2. Железнова Г.Ф. Роль цитокинов в патогенезе и диагностике инфекционных заболеваний // Инфекционные болезни. - 2008. - Т.6, №3 - С. 70-76
3. Краснова Е.М., Панасенко Л.М. Содержа-

ние провоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов в сыворотке крови больных коклюшем // Инфекционные болезни. - 2005. - №3 - С. 36-39

4. Панасенко Л.М., Краснова Е.М. Содержание провоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов в сыворотке крови больных коклюшем // Аллергология -2005. - № 3 - С. 40-44
5. Петрова С., Крючкова Г.С., Келли Е.И. Клинико-морфологические параллели при коклюше у детей // Эпидемиология и инфекционные болезни - 2000. - №4 - С.38-41
6. Попова О.П., Селезнева Т.О., Милюкова В.И. Эпидемиология коклюша в Подмоскowie // Эпидемиология и инфекционные болезни. -1999. - № 1. - С. 32-35
7. Попова О.П., Петрова М.С., Чистякова Г.Г. Клиника коклюша и серологические варианты коклюшного микроба в современных условиях // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2005. - №1. - С.44-46
8. Сиземов А.Н., Комелева Е.В.. Коклюш: клиника, диагностика, лечение // Лечащий врач. - 2005. - №7. - 82-87
9. Симбирцев А.С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций иммунной системы // Физиология и патология иммунной системы. - 2004. - №10. - С. 3-9.
10. Симбирцев А.С. Цитокины - новая система защитных реакций организма // Цитокины и воспаление - 2002. - №3. - С. 9-17.
11. Тимченко В.Н., Бабаченко И.В., Ценева Г.А. Эволюция коклюшной инфекции у детей. - СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. - 192с.
12. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г.. Иммунология. - М.: Медицина, 2000. - 432с.
13. Barnard A. Th1/Th2 cell dichotomy in acquired immunity to *Bordetella pertussis*: variables in the in vivo priming and in vitro cytokine detection techniques affect the classification of T cell subsets as Th1, Th2 or Th0 / A. Barnard, B.P. Mahon, J. Watkins et. al. / [www.ncbi.nlm.nih.gov/sites](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites).
14. Cavallo MG. Cytokines and autoimmunity. / MG. Cavallo, P. Rozzilli, R. Thorpe // Clin Exp Immunol - 1994 - 96(1): 1-7.