

Инфекционные болезни, иммунология, иммунотерапия



УДК 616.34-008.314.4-053.2

К.А. Копачевская, В.П. Молочный

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ НЕОПТЕРИНА И НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-98-05-39, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

В статье представлена сравнительная характеристика цитокинового статуса и уровня неоптерина при бактериальных и вирусных диареях у детей раннего возраста г. Хабаровска. Показано достоверное увеличение уровня неоптерина, ИЛ-1 бета, ИЛ-4, ИНФ-альфа в крови детей с бактериальными диареями, в сравнении с группой вирусных диарей, где отмечалось повышение уровня ФНО-альфа, ИНФ-альфа и ИНФ-гамма. Кроме того, выявлена достоверная корреляция между показателем уровня неоптерина и ИЛ-1, неоптерина и ИНФ-альфа у детей с бактериальной этиологией заболевания. Это, вероятно, связано с активацией макрофагального звена иммунитета цитокинами у больных бактериальными диареями и, как следствие, значительному увеличению выработки неоптерина.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, дети, неоптерин, цитокины.

К.А. Kopachevskaya, V.P. Molodnyy

DYNAMICS OF NEOPTERIN AND SOME CYTOKINES IN THE BLOOD OF YOUNG CHILDREN WITH ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The article presents a comparative description of the cytokine status and the level of neopterin in bacterial and viral diarrhea in young children of Khabarovsk. It showed a significant increase of neopterin, IL-1 beta, IL-4, IFN-alpha in the blood of children with bacterial diarrhea, as compared with a group of viral diarrhea, where the level of TNF-alpha, IFN-alpha and IFN-gamma were increased. In addition, significant correlation was found between the level of neopterin and IL-1, neopterin and IFN-alpha in children with bacterial etiology of the disease. This is probably due to the activation of macrophage immunity by cytokines in patients with bacterial diarrhea and, as a consequence, a significant increase in the production of neopterin.

Key words: acute intestinal infections, children, neopterin, cytokines.

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают важное место в структуре инфекционной патологии у детей. Ежегодно в мире от острых диарей и их осложнений умирают до 5 миллионов детей [8]. В последнее время ведущим этиологическим фактором ОКИ являются вирусы. Первое место занимают ротавирусы, за ними следуют норовирусы, аденовирусы, астровирусы и другие патогены [1]. Среди «чистых» бактериальных диарей значительно уменьшилось число сальмонеллезов и шигеллезов, основное значение имеют различные условно-патогенные бактерии (УПБ) [5]. В связи с преобладанием в настоящее время в этиологической структуре ОКИ вирусных заболеваний отпадает не-

обходимость в тотальном назначении антибактериальных препаратов. Кроме того, существует угроза инфекций, вызываемых антибиотико-резистентными штаммами, риском суперинфекции, связанным с подавлением антибактериальными средствами нормальной микрофлоры и возможностью заселения кишечника болезнетворными микроорганизмами в результате воздействия антибиотиков [3].

Проблема ранней этиологической расшифровки ОКИ остается еще и потому, что в практическом здравоохранении спектр лабораторных исследований до сих пор ограничен выявлением только бактериальной микрофлоры, редко – ротавирусов. До сих пор, по дан-

ным официальной статистики за 2014 год, в России 60,1 % случаев ОКИ остались не расшифрованными [6]. Именно поэтому на современном этапе так важно найти дополнительные методы экстренной диагностики ОКИ, помогающие определить этиологический фактор заболевания (даже косвенно), что позволило бы оперативно решать вопрос о выборе адекватной медикаментозной терапии.

В последние годы в отечественной и зарубежной научной литературе привлекают внимание публикации о неоптерине, как неспецифическом маркере воспаления. Неоптерин [2-амино-4-гидрокси-6-(D-эритро-1',2',3'-тригидроксипропил) – птеридин] – достаточно широко распространен в природе. Установлено, что при патологических состояниях, связанных с активацией иммунной системы, концентрация неоптерина и 7,8-дигидронеоптерина в организме может значительно увеличиваться. Было доказано, что главным его источником являются моноциты/макрофаги, а основным действующим началом, ответственным за стимуляцию продукции неоптерина данными иммунокомпетентными клетками, является интерферон (ИНФ) – гамма [11]. ИНФ-альфа и ИНФ-бета также индуцируют синтез неоптерина, но их действие значительно менее выражено [10]. Известно также, что интерлейкин (ИЛ)-4 и ИЛ-10 ингибируют влияние ИНФ-гамма на синтез неоптерина моноцитами/макрофагами [7]. Показано также, что через сутки после внутривенной инъекции

фактора некроза опухоли (ФНО) – альфа наблюдается повышение концентрации неоптерина в крови здоровых людей [13]. Бактериальные липополисахариды (ЛПС) также играют роль супериндукторов интерферона в отношении продукции неоптерина [14].

Потенциально источником неоптерина могут быть и НК-клетки, однако это не связано с влиянием ИНФ-гамма. Дендритные клетки, образующиеся из моноцитов, также способны продуцировать неоптерин [15], при этом они оказались более чувствительными к действию интерферонов I типа (ИНФ-альфа и ИНФ-бета).

В настоящее время повышение уровня неоптерина в крови отмечено при вирусных заболеваниях [4], ВИЧ-инфекции [9], туберкулезе [2]. Уровень неоптерина в крови умерших больных от сепсиса оказался в 3 раза выше, чем среди выживших больных, что позволило авторам рассматривать его как неблагоприятный прогностический маркер при данном заболевании [12].

С учетом имеющихся в литературе сведений о роли неоптерина при разных патологических состояниях, мы предположили возможное изменение его уровня в крови у детей, больных острыми кишечными инфекциями (ОКИ), разными по этиологии болезни – вирусной или бактериальной.

Цель работы – определение содержания уровня неоптерина и цитокинов у детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 75 детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями, которые были госпитализированы по строгим клиническим показаниям в КГБУЗ ДККБ им. А.К. Пятровича МЗ Хабаровского края за период с сентября 2015 по июнь 2016 года. В качестве условно-здоровых детей было 13 детей, поступавших на плановое хирургическое лечение. 34 ребенка были больными острыми бактериальными кишечными инфекциями. У этих детей были выделены следующие возбудители болезни: сальмонелла, протей, энтеробактер, цитробактер, стафилококк, провиденция, иерсинии в виде моно- и микст-инфекции. Учитывая, что мы не ставили задачу определения клинико-этиологических особенностей этих заболеваний, мы посчитали возможным объединения всех этих больных в одну группу «бактериальных ОКИ». У других 41 ребенка была диагностирована вирусная (ротавирусная) кишечная инфекция. У всех больных заболевание протекало в среднетяжелой форме, имело гладкое течение без осложнений.

Для установления бактериальной этиологии заболевания все 75 больных были обследованы бактериологически (посев кала на шигеллы, сальмонеллы, УПФ, посев промывных вод желудка) и серологически (РНГА с дизентерийным, сальмонеллезным, иерсиниозным и псевдотуберкулезным диагностикумами). Случаи ОКИ, вызванные УПФ, учитывались при количестве выделенной флоры из фекалий, превышающей

10⁴ КОЕ. Для диагностики вирусной этиологии заболевания использовался иммуноферментный анализ кала для выявления антигена ротавируса (Ротавирус-антиген, ИФА, «Вектор-БЕСТ», Россия). На ротавирусы также были обследованы фекалии всех 75 наблюдавшихся нами больных.

Уровень неоптерина в крови детей исследовался методом ИФА с использованием набора реагентов «Neopterin, ELISA», Германия. Учитывая известное влияние цитокинов на продукцию неоптерина в иммунных клетках, мы решили исследовать их в сыворотке крови у детей, больных острыми кишечными инфекциями (ОКИ), одновременно с определением концентрации неоптерина. Было изучено содержание в крови детей ИЛ-1, ИЛ-4, ФНО-альфа, ИНФ-альфа и ИНФ-гамма. Указанные цитокины определялись в сыворотке крови твердофазным иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы «Вектор-БЕСТ», Россия.

Статистическая обработка полученных показателей осуществлялась с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность разницы между группами была рассчитана с помощью t-критерия Стьюдента, с помощью U-критерия Манна-Уитни и критерия Краскела-Уоллиса. Корреляционный анализ проводился по методу Пирсона. Достоверными считались показатели при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные нами результаты исследования динамики неоптерина и некоторых цитокинов в сыворотке

крови детей, больных острыми кишечными инфекциями, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание неоптерина и цитокинов в сыворотке крови детей, больных острыми кишечными инфекциями

Наименование показателей, ед. изм.	Здоровые дети	Дети, больные кишечными инфекциями	
		бактериальными	вирусными
Неоптерин, нмоль/л	7,1±2,53, p1<0,001	24,1±5,13, p2<0,01	11,4±2,54, p3>0,05
ИЛ-1 бета, пг/мл	7,3±2,32, p1<0,05	15,7±3,37, p2<0,02	6,6±0,77, p3>0,05
ФНО, пг/мл	9,0±1,51, p1>0,05	9,5±0,88, p2<0,001	16,3±1,23, p3<0,001
ИЛ-4, пг/мл	1,3±0,32, p1<0,05	1,9±0,15, p2>0,05	1,6±0,34, p3>0,05
ИНФ-альфа, пг/мл	22,5±6,47, p1<0,001	85,5±9,03, p2<0,001	38,2±2,89, p3<0,05
ИНФ-гамма, пг/мл	15,9±2,57, p1>0,05	20,3±1,64, p2<0,001	37,4±2,91, p3<0,001

Примечание. p1 – достоверность различия показателей, полученных в группе детей, больных бактериальными диареями, и в группе здоровых детей; p2 – достоверность различия показателей, полученных в группе детей, больных бактериальными диареями, и группой детей, больных вирусными диареями; p3 – достоверность различия показателей, полученных в группе детей, больных вирусными диареями, и в группе здоровых детей.

Как видно из данных таблицы 1, содержание неоптерина в крови детей с бактериальными диареями оказалось достоверно выше условной нормы в 3,3 раза, у детей с вирусными диареями – в 1,6 раза (p>0,05). При этом, у больных бактериальными диареями уровень неоптерина в крови был в 2,2 раза больше, чем у детей, больных вирусными ОКИ. Уровень цитокина ИЛ-1 бета в крови детей с бактериальными ОКИ, повысился в 2,1 раза по сравнению с показателями, обнаруженными у здоровых детей из группы сравнения, и в 2,3 раза выше в сравнении с показателем, полученным у больных вирусными ОКИ. При вирусной инфекции его среднее значение не отличалось от нормальных величин. Средний показатель концентрации ФНО в крови детей, больных бактериальными ОКИ, достоверно не изменился по сравнению с аналогичным показателем, обнаруженным у детей группы сравнения. В то же время, его среднее значение, установленное у детей, больных вирусными диареями, оказалось в 1,8 раза выше показателя условной нормы, и достоверно выше в сравнении с аналогичным показателем, полученным у детей, больных бактериальными ОКИ.

При сопоставлении динамики средних значений содержания провоспалительных цитокинов в крови обследованных нами больных детей в острый период болезни, можно обратить внимание на то, что концентрация ИЛ-1 бета существенно увеличивается в крови больных бактериальными диареями, а уровень ФНО-альфа, наоборот, оказался значительно выше в крови детей с вирусными диареями. Концентрация в крови детей другого цитокина – ИЛ-4, ответственного за усиление противовоспалительных реакций, изменялась в острой стадии болезни у детей менее значительно: у детей с бактериальными ОКИ его содержание достоверно увеличилось по сравнению с нормальными показателями (в 1,4 раза), у детей с вирусными ОКИ – его среднее значение не отличалось как от нормы, так и от показателя, обнаруженного у детей, больных бактериальными ОКИ.

Динамика средних показателей интерферонов в крови наблюдавшихся нами больных оказалась более значительной. Так, концентрация ИНФ – альфа в крови детей с бактериальными диареями увеличилась в 3,8 раза по сравнению со средними значениями уровня этого же цитокина, определенного в крови условно здоровых детей, и была в 2,2 раза выше такого же показателя, полученного у больных вирусными диареями. При вирусных диареях среднее содержание ИНФ альфа в крови детей было также достоверно выше нормальных величин (1,6 раза) и было достоверно меньше, чем у больных бактериальными диареями. Несколько иная динамика обнаружена нами при изучении содержания ИНФ-гамма в крови больных ОКИ. Его уровень был в 2,3 раза выше у детей, больных вирусными диареями, по сравнению с аналогичным средним показателем, определенным у детей из группы сравнения. Кроме того, он оказался в 1,6 раза больше показателя, полученного у детей, больных бактериальными инфекциями. Среднее значение ИНФ-гамма, обнаруженное в крови детей, больных бактериальными ОКИ, не отличалось от нормы. Можно заметить также, что наибольшее значение содержания ИНФ-альфа в острой стадии заболевания обнаружено нами у детей, больных бактериальными ОКИ, а ИНФ-гамма – у больных вирусными кишечными инфекциями.

Мы посчитали важным определение статистической взаимосвязи между показателями содержания неоптерина, выявленными нами в крови детей, больных ОКИ, и показателями уровня исследованных цитокинов у этих же пациентов. Результаты проведенного корреляционного анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции между содержанием неоптерина и цитокинов, полученных в крови детей, больных острыми кишечными инфекциями

Наименование сравниваемых показателей	Бактериальные кишечные инфекции	Вирусные кишечные инфекции
ИЛ-1/неоптерин	0,68*	-0,08
ФНО-альфа/неоптерин	0,33	0,22
ИЛ-4/неоптерин	0,53	0,08
ИНФ-альфа/неоптерин	0,69*	0,04
ИНФ-гамма/неоптерин	0,20	0,17

Примечание. * – достоверность разности коэффициента корреляции p<0,05.

Как видно из материалов, представленных в табл. 2, при сравнении изменений концентрации в крови неоптерина и изученных цитокинов нами была выявлена с помощью корреляционного анализа достоверная положительная корреляция между показателями ИЛ-1 и неоптерина, ИНФ-альфа и неоптерина только у больных бактериальными ОКИ. Другие полученные коэффициенты корреляции между показателями в этой же группе больных оказались статистически недостоверными. При вирусных диареях закономерной зависимости между динамикой показателей неоптерина и изученных цитокинов нами получено не было.

Следовательно, обнаруженная нами динамика содержания ряда цитокинов и уровня неоптерина в крови детей раннего возраста выявила особенности активации иммунной системы при вирусной и бактериальной этиологии ОКИ. Выявлено достоверное увеличение уровня неоптерина, провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИНФ-альфа), и противовоспалительного ИЛ-4, при бактериальной этиологии заболевания. При вирусных ОКИ уровень неоптерина в крови детей имел только тенденцию к увеличению, но достоверного отличия от нормы не было получено. В то же время, повысился уровень ФНО-альфа, ИНФ-альфа и ИНФ-гамма по отношению к нормальным величинам. Однако при сравнении с аналогичными показателями, полученными у больных бактериальными ОКИ, у больных вирусными диареями только уровень ФНО-альфа и ИНФ-гамма были значительно выше. То есть, в остром периоде кишечных инфекций у детей раннего возраста при бактериальной этиологии основную провоспалительную роль играют ИЛ-1 и ИНФ-альфа, при вирусной этиологии – ФНО-альфа и ИНФ-гамма. Уровень неоптерина в крови детей значительно повышался у больных бактериальными диареями.

При проведении корреляционного анализа между динамикой содержания в крови детей, больных бакте-

риальными и вирусными ОКИ, неоптерина и других цитокинов нами была выявлена достоверная положительная связь между динамикой показателей неоптерина и ИЛ-1, неоптерина и ИНФ-альфа только при бактериальной этиологии заболевания. Последнее позволяет высказать предположение о прямом влиянии этих цитокинов на стимуляцию продукции неоптерина у детей раннего возраста, больных острыми кишечными инфекциями бактериальной природы. Известно, что основным механизмом противобактериального иммунитета является фагоцитоз, осуществляемый макрофагами и нейтрофильными лейкоцитами [10,13]. Антигенная стимуляция макрофагов приводит к инициации выработки ими цитокинов «первого поколения», таких как ИЛ-1 и ИНФ-альфа. Эти же цитокины в свою очередь, активируют макрофаги и нейтрофильные лейкоциты, запуская комплекс специфической и неспецифической противобактериальной защиты в организме детей, чем, вероятно, и обусловлено увеличение уровня неоптерина в крови. Полученные результаты позволяют рассматривать неоптерин в качестве неспецифического маркера воспалительной реакции, развивающейся у детей раннего возраста, больных бактериальными кишечными инфекциями.

Литература

1. Асилова М.У., Мусабаев Э.И., Убайдуллаева Г.Б. Вирусные диареи в структуре острых кишечных инфекций у детей // Журнал инфектологии. – 2011. – Т. 3, № 3. – С. 56-59.
2. Бердюгина О.В., Ершова А.В. Исследование уровня неоптерина при разных формах туберкулезного воспалительного процесса // Медицинский альянс. – 2015. – № 4. – С. 68-72.
3. Горелов А.В., Милотина Л.Н., Усенко Д.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых кишечных инфекций у детей // Пособие для врачей. – М., 2006. – 109 с.
4. Дудина К.Р., Кутателадзе М.М., Знойко О.О. и др. Неоптерин – потенциальный диагностический и прогностический маркер при инфекционных заболеваниях // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95, № 6. – С. 938-943.
5. Копачевская К.А., Заварцева Л.И., Молочный В.П. Клинико-этиологическая характеристика острых кишечных инфекций у детей раннего возраста г. Хабаровска // Детские инфекции. – 2016. – № 3.
6. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях (форма 1) за январь-декабрь 2014 г. <http://www.fcgsen.ru>.
7. Свиридов Е.А., Телегина Т.А. Неоптерин и его восстановленные формы: биологическая роль и участие в клеточном иммунитете // Успехи биологической химии. – 2005. – Т. 45. – С. 355-390.
8. Хаертынов Х.С. Анохин В.А. Современные принципы терапии острых кишечных инфекций у де-

тей раннего возраста // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91, № 1. – С. 1-6.

9. Bipath P., Levay P., Olorunju S., et al. A non-specific biomarker of disease activity in HIV/AIDS patients from resource-limited environments // African Health Sciences. – 2015. – Vol 15, № 2. – P. 338-343.

10. Bitterlich G., Szabó G., Werner E.R., et al. Selective induction of mononuclear phagocytes to produce neopterin by interferons // Immunobiology. – 1988. – Vol. 176, № 3. – P. 228-235.

11. Murr C., Widner B., Wirleitner B., et al. Neopterin as a marker for immune system activation // Curr. Drug Metabol. – 2002. – Vol. 3. – P. 175-187.

12. Nuriye Tasdelen Fisgin, Yuksel Aliyazicioglu, Ahmet Yilmaz Coban, et al. The Value of Neopterin and Procalcitonin in Patients with Sepsis // SMJ. – 2010. – Vol. 103(3). – P. 210-216.

13. Van der Poll. T., van Deventer S.J., Hack C.E., et al. Effects on leukocytes after injection of tumor necrosis factor into healthy humans // Blood. – 1992. – Vol. 79. – P. 693-698.

14. Werner-Felmayer G., Baier-Bitterlich G., Fuchs D., et al. Detection of bacterial pyrogens on the basis of their effects on gamma interferonmediated formation of neopterin or nitrite in cultured monocyte cell lines // Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology. – 1995. – Vol. 2. – P. 307-313.

15. Wirleitner B., Reider D., Ebner S., et al. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin // J Leukoc Biol. – 2002. – Vol. 72. – P. 1148-1153.

Literature

1. Asilova M.U., Musabaev E.I., Ubaydullaeva G.B. Viral diarrhea in the structure of acute intestinal infections

in children // Journal of Infectology. – 2011. – Vol. 3, № 3. – P. 56-59.

2. Berdyugina O.V., Ershov A.V. Neopterin level study in various forms of tubercular inflammatory process // Medical Alliance. – 2015. – № 4. – P. 68-72.
3. Gorelov A.V., Milyutin L.N., Usenko D.V. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of acute intestinal infections in children // Manual for physicians. – M., 2006. – 109 p.
4. Dudina K.R., Kutateladze M.M., Znoyko O.O. et al. Neopterin – a potential diagnostic and prognostic marker in infectious diseases // Kazan Medical Journal. – 2014. – Vol. 95, № 6. – P. 938-943.
5. Kopachevskaya K.A., Zavartseva L.I., Molochny V.P. Clinical and etiological characteristics of acute intestinal infections in young children of Khabarovsk city // Children Infections. – 2016. – № 3.
6. Information on infectious and parasitic diseases (Form 1) for January-December 2014. <http://www.fcgsen.ru>.
7. Sviridov E.A., Telegina T.A. Neopterin and its reduced forms: its biological role and participation in cellular immunity // Advances in Biological Chemistry. – 2005. – T. 45. – P. 355-390.
8. Haertynov Kh.S., Anokhin V.A. Modern principles of treatment of acute intestinal infections in infants // Kazan Medical Journal. – 2010. – Vol. 91, № 1. – P. 1-6.
9. Bipath P., Levay P., Olorunju S., et al. A non-specific biomarker of disease activity in HIV/AIDS patients from resource-limited environments // African Health Sciences. – 2015. – Vol 15, № 2. – P. 338-343.
10. Bitterlich G., Szabó G., Werner E.R., et al. Selective induction of mononuclear phagocytes to produce neopterin by interferons // Immunobiology. – 1988. – Vol. 176, № 3. – P. 228-235.
11. Murr C., Widner B., Wirleitner B., et al. Neopterin as a marker for immune system activation // Curr. Drug Metabol. – 2002. – Vol. 3. – P. 175-187.
12. Nuriye Tasdelen Fisgin, Yuksel Aliyazicioglu, Ahmet Yilmaz Coban, et al. The Value of Neopterin and Procalcitonin in Patients with Sepsis // SMJ. – 2010. – Vol. 103 (3). – P. 210-216.
13. Van der Poll. T., van Deventer S.J., Hack C.E., et al. Effects on leukocytes after injection of tumor necrosis factor into healthy humans // Blood. – 1992. – Vol. 79. – P. 693-698.
14. Werner-Felmayer G., Baier-Bitterlich G., Fuchs D., et al. Detection of bacterial pyrogens on the basis of their effects on gamma interferonmediated formation of neopterin or nitrite in cultured monocyte cell lines // Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology. – 1995. – Vol. 2. – P. 307-313.
15. Wirleitner B., Reider D., Ebner S., et al. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin // J Leukoc Biol. – 2002. – Vol. 72. – P. 1148-1153.

Координаты для связи с авторами: *Копачевская Кристина Андреевна* – очный аспирант кафедры детских инфекционных болезней ДВГМУ, тел. +7-914-206-95-62, e-mail: kkorachevskaya@mail.ru; *Молочный Владимир Петрович* – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских инфекционных болезней ДВГМУ.

