

УДК: 616.33+616.342]-002.2-053.2-085.281

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ДІТЕЙ З ДУОДЕНАЛЬНОЮ ВИРАЗКОЮ, ІНДУКОВАНОЮ HELICOBACTER PYLORI

С.П. Ходаківська**Національний медичний університет імені О.О. Богомольця**

Indicators of interleukins in duodenal ulcers in children depending on cytotoxicity of Hp strains Khodakivskaya S.

O.O. Bogomolets National University, Kiev**The objective.** Study of blood cytokine indices at children with duodenum ulcer.**Patients and methods.** 25 children with duodenum ulcer aged 12-18 years were investigated. All children had duodenal helicobacteriosis of the cytotoxic cultures (HpCag A). The blood serum cytokines were investigated by means IFA method.**Results.** It was ascertained that in blood of sick children the levels of aggression factors are increased and gastro protection of stomach mucous tunic (SMT) is reduced. Immune response as per Th-type with the high concentration of TLR4 and cytokines (IL-8,4) indices predominates at that.**Conclusion.** In blood serum of sick children with duodenum ulcer in sharp phase the pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukin indices are raised together with TLR4 indices, that correlates with an active proliferation and virulence of Hp.**Keywords:** factors of aggression and protection, interleukins, children, chronic gastroduodenitis, Hp.

Динамика показателей интерлейкинов сыворотки крови у детей с дуоденальной язвой, индуцированной Helicobacter pylori

Ходаковская С.П.**Національний медичний університет імені А.А. Богомольця****Цель.** Изучение показателей цитокинов у детей с дуоденальной язвой.**Пациенты и методы.** Обследовано 25 детей с дуоденальной язвой в возрасте 12-18 лет. Все дети имели дуоденальный хеликобактериоз цитотоксических штаммов (HpCag A). Методом ИФА изучены цитокины сыворотки крови.**Результаты.** Установлено, что у больных детей повышаются в крови уровни факторов агрессии и снижается гастропротекция СОЖ. Доминирует иммунный ответ по Th2-типу с высокой концентрацией показателей TLR4 цитокинов (IL-8,4).**Заключение.** У больных детей с дуоденальной язвой в стадии обострения повышаются показатели провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов сыворотки крови, а также показатели TLR4, что коррелирует с активной пролиферацией и вирулентностью Hp.**Ключевые слова:** пепсиноген-1, фукоза, интерлейкины, дети, ХГД, Hp.**Адреса для кореспонденції:****Ходаківська Світлана Петрівна** - к.м.н., доцент кафедри педіатрії №5 НМУ імені О.О. Богомольця; тел. 0986767828; адреса: м. Київ, вул.

Горького, 116, кв. 11; e-mail: p5nmu@ukr.net

Дуоденальна виразка (ДВ), індукована *Helicobacter pylori*, у дітей займає не останнє місце в структурі хронічної гастро-дуоденальної патології [1].

За останні десятиріччя накопичено значний досвід діагностики та лікування ДВ, індукованої *Helicobacter pylori* – впроваджено в педіатричну практику рекомендації 4-х Маастрихтських консенсусів 1996, 2000, 2005, та 2011 рр.

Антигелікобактерна терапія (АГБТ) розглядається як основна складова лікування дітей із зазначеною патологією. В сучасних умовах виразкова хвороба у дітей має рецидивуючий перебіг, що обумовлює актуальність подальшого вивчення механізмів розвитку виразкових дефектів та чинників впливу на перебіг хвороби. Вивчають механізми регуляції вродженого імунітету, що здійснюється групою тол-подібних рецепторів (TLR) у розпізнаванні та елімінації бактерій, в тому числі і *Helicobacter pylori* [2, 3]. Активація TLR4 призводить до індукції ефекторних генів, що стимулюють продукцію прозапальних цитокінів, які індукують апоптоз, сприяючи ушкодженню тканин і прогресуванню хвороби. В публікаціях, присвячених питанням регенерації гастродуоденальної слизової оболонки, є дані показників TLR-4, але оцінка їх при ДВ у дітей ще потребує подальшого вивчення.

Детермінація імунної відповіді, що відбувається за Th1-клітинним типом, та продукція відповідного спектру цитокінів є провідною в імунопатогенезі Нр-індукованої патології у дітей [4, 5]. Цитокіни – група поліпептидних медіаторів, що приймають участь у формуванні та регуляції захисних реакцій організму. Основними імуномедіаторами, що визначають активацію і пригнічення імунної відповіді щодо Нр, є інтерлейкіни (ІЛ). ІЛ-1 β забезпечує біологічні ефекти в патофізіологічних механізмах обсіменіння слизової оболонки шлунка Нр: прозапальний, антисекреторний та цитопротективний ефекти [6]. Вплив прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8) та протизапальних інтерлейкінів (ІЛ-4, ІЛ-10) на перебіг ДВ у дітей вивчено недостатньо.

Відсутні дослідження з вивчення про- та протизапальних інтерлейкінів та типу імунної відповіді у дітей із ДВ, а також встановлення зв'язку з показниками TLR-4, ПГ-1, ступенем обсіменіння СОШ Нр та активністю запалення.

Мета дослідження: вивчити показники запальних і протизапальних інтерлейкінів у дітей з дуоденальною виразкою.

Матеріал і методи дослідження. Обстежено 25 дітей з ДВ, індукованою Нр *СagA*«+», із них 12 жіночої статі та 13 чоловічої статі у віці 12-18 років. Контрольну групу складало 30 практично здорових дітей того ж віку.

Усім обстеженим дітям проводилось загальноклінічне та біохімічне дослідження крові, аналіз крові на цукор, копрограма.

Для оцінки стану імунітету (Т- та В-клітинного) проводили визначення відносної кількості Т-лімфоцитів за

допомогою реакції розеткоутворення. Рівень імуноглобулінів класів М, G, А, у сироватці крові визначали методом радіальної імунодифузії в агарі за допомогою реакції преципітації методом Манчіні. Вміст TLR-4 у сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором «Human TLR-4 Elisa» (NEOBiolab, США).

Ендоскопічне дослідження проводили за допомогою фіброгастродуоденоскопу «Pentax FG-24P» для верифікації діагнозу ДВ відповідно до «Сіднейської системи» (1996) та Київських рекомендацій (2015).

Діагностика інфікування Нр-інфекції включала: дослідження біоптатів слизової оболонки шлунка: гістологічний, бактеріоскопічний; швидкий уреазний тест; 13С-сечовинний дихальний тест; визначення антигену *H. pylori* у випорожненнях (НрSA-тест;) визначення антитіл ІgG до антигену *H. pylori*.

Концентрацію ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8 вимірювали кількісним сендвіч-методом імуноферментного аналізу (ELISA, ЗАО «Вектор-Бест», Росія). Метод базується на твердофазному «сендвіч»-варіанті імуноферментного аналізу з використанням моно- та поліклональних антитіл до інтерлейкінів.

Всім дітям проводилось лікування: 25 дітей отримували послідовну ерадикаційну терапію: спочатку 5-денний подвійний комплекс (ранітидин + амоксицилін), а в подальшому – 5-денний з чотирьох складових (ранітидин + амоксицилін + де-нол + кларитроміцин); тривалість лікування – 10 днів. «Де-нол» призначали у віковій дозі 2 рази на добу: 12-18 років – 160-220 мг на прийом (або з розрахунку – 4 мг/кг на 1 прийом). Крім того, після завершення ерадикаційної терапії продовжували лікування ранітидином у віковій дозі 1 раз на ніч ще 2 тижні.

Результати дослідження статистично оброблені за допомогою пакетів комп'ютерних програм Statistica 7.0. Дані наведені у вигляді Me (Q1-Q3). Для аналізу параметричних показників використовували критерій Ст'юдента (t-тест). Різниця в результатах вважалась достовірною при $p < 0,05$. Кореляційну залежність визначали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

Результати дослідження. В дослідження включили 25 дітей з позитивним результатом визначення антитіл до Нр *СagA*«+». Як у хлопчиків, так і у дівчаток вірогідно частіше визначався больовий синдром (92,0 \pm 2,4%) та (80,0 \pm 2,2%) відповідно ($p < 0,05$), синдром диспепсії (88,0 \pm 2,5%) та (76,0 \pm 2,3%) відповідно ($p < 0,05$) і неспецифічної інтоксикації (64 \pm 2,1%) та (68 \pm 2,2%) відповідно ($p > 0,05$).

Результати ендоскопічного дослідження у дітей із ДВ: виразкові дефекти СОД малого (41,4%) та середнього (57,3%) розмірів і локалізувалися в цибуліні дуоденум на передній (49,3%) та задній (39,7%) стінках. Не виявлено залежності між розміром виразкового дефекту та ступенем обсіменіння *H. pylori* СОД. У обстежених дітей ДГР

виявлено у 8 (32%), у 2 (8%) дітей ДГР поєднувався із гастроєзофагальним рефлюксом (ГЕР).

Аналіз результатів морфологічного дослідження біоптатів СОД встановив: II ступінь (55%) та III (45%) ступінь активності запалення, що поєднувалося з II ступенем та/або III ступенем обсіменіння H. pylori. Атрофії СОД та кишкової метаплазії не виявлено в жодному випадку.

Зв'язків між ступенем активності запалення СОШ та тривалістю захворювання за статтю і віком не встановлено.

Виявлено зменшення кількості Т-лімфоцитів крові хворих на 12,5%, спостерігається тенденція до зменшення субпопуляції Т-хелперів та Т-супресорів – $30,5 \pm 1,1\%$ та $13,1 \pm 0,5\%$, проти $35,5 \pm 0,6\%$ та $17,5 \pm 0,5\%$ відповідно у контрольній групі. Це відповідає I ступеню імунних розладів. Проаналізували показники В-лімфоцитів та імунноглобулінів класів М, G, і А у обстежених хворих в стадії загострення в порівнянні з групою контролю і не виявили суттєвої різниці; спостерігали зниження показника IgA сироватки крові до $0,7 \pm 0,1$ г/л (табл. 1).

Таблиця 1
Імунологічні показники хворих на ДВ і здорових дітей

| Показник | Хворі | Здорові |
|-----------------|------------------|-----------------|
| Т-лімфоцити (%) | $46,1 \pm 1,2^*$ | $55,1 \pm 0,5$ |
| В-лімфоцити (%) | $24,5 \pm 1,5$ | $24,8 \pm 0,1$ |
| Т-хелпери (%) | $30,5 \pm 1,1$ | $35,5 \pm 0,6$ |
| Т-супресори (%) | $13,1 \pm 0,05$ | $17,5 \pm 0,5$ |
| IgA (г/л) | $0,7 \pm 0,1^*$ | $1,9 \pm 0,5^*$ |
| IgG (г/л) | $10,8 \pm 0,5$ | $11,3 \pm 0,0$ |
| IgM (г/л) | $1,5 \pm 0,2$ | $1,6 \pm 0,2$ |

Примітка: - * достовірність різниці $p < 0,05$

При аналізі показника TLR-4 сироватки крові у обстежених дітей з ДВ в стадії загострення спостерігається збільшення показника у порівнянні з контрольною групою (табл. 2).

Таблиця 2
Показники TLR-4 сироватки крові у хворих на ДВ в стадії загострення, (Ме [25-75])

| Групи | TLR-4, нг/мл | | |
|--------------------------|------------------|------|------------------|
| | M±m | Ме | 25-75 перцентилі |
| Основна група n=25 | $960,5 \pm 80^*$ | 1005 | 780-1500 |
| Контрольна група n=30 | $570 \pm 30,5$ | 550 | 410-650 |

Примітка: * - різниця вірогідна щодо показників групи здорових дітей ($p < 0,01$).

Співставили показники інтерлейкінів у хворих на ДВ в стадії загострення, а також до та після лікування (табл. 3).

Таблиця 3

Показники інтерлейкінів сироватки крові у дітей з ДВ до та після лікування

| Показники, пг/мл | | Діти з | |
|------------------|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
| | | ДВ (n= 15) | Здорові (контрольна) (n=30) |
| IL-1β | до лікування | $25,8 \pm 1,3$ (21,6-33,1) | 8,4 (1,2-18,5) |
| | після лікування | $14,04 \pm 0,3$ (1,9-45,5) | |
| IL-8 | до лікування | $73,9 \pm 10,1$ (10-93) | 11,5 (0,9-22,5) |
| | після лікування | $21,6 \pm 1,42$ (0,5-39,3) | |
| IL-4 | до лікування | $54,7$ (5,6-58,3) | 10,1 (0,5-26,1) |
| | після лікування | $10,19$ (0,9-30,7) | |
| IL-10 | до лікування | $20,1 \pm 4,5$ (3,5-65) | 4,5 (2,1-35,8) |
| | після лікування | $15,5 \pm 5,1$ (8,0-25) | |
| TLR-4 | до лікування | $960,5 \pm 80,1$ | 570±30,5 |
| | після лікування | $690,5 \pm 1$ | |

Примітка: різниця вірогідна щодо показників групи порівняння ($p < 0,05$).

Підвищення показників IL-1β спостерігали у 68% дітей з ДВ в стадії загострення, а у решти дітей не виявляли підвищення показників IL-1β та IL-8. Зазначене можна пояснити особливостями реагування імунної системи. На особливу увагу заслуговує й той факт, що у 28% дітей показники прозапальних інтерлейкінів знаходилися на високому рівні впродовж тривалого часу, що можна розцінити як факт вираженого та затяжного запального процесу.

Аналіз показників цитокінів сироватки крові з урахуванням віку і статі не виявив IL-1β, IL-8 зменшення у підлітків, що співпадає з даними літератури [7].

Таким чином, проведений аналіз динаміки показників інтерлейкінів крові у дітей із ДВ встановив, що прозапальні інтерлейкіни можуть слугувати додатковими критеріями загострення хвороби, тоді як протизапальні – тривалості запального процесу.

Висновки:

1. У хворих на ДВ в стадії загострення підвищуються показники прозапальних та протизапальних інтерлейкінів сироватки крові та TLR-4 в порівнянні із здоровими дітьми. У 68% дітей домінує імунна відповідь за Th1-типом із високою концентрацією цитокінів (IL-1 та IL-8).
2. Прозапальні інтерлейкіни можуть слугувати в якості додаткового критерію загострення ДВ, тоді як протизапальні – тривалості запального процесу.
3. У хворих дітей після проведеної ерадикаційної терапії виявлено достовірне зниження TLR-4 сироватки крові, проте цей показник далі залишався підвищеним в порівнянні зі здоровими дітьми.

Література

1. Майданик В.Г. Болезни органов пищеварения. К.; СП "Интертехнодрук", 2010. – 1157с.
2. Абатуров О.Є. Клінічні особливості хелікобактерної інфекції у дітей в залежності від імунної відповіді макроорганізму /О.Є. Абатуров., О.М. Герасименко//Педіатрична гастроентерологія і нутріціологія: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (20-21 травня 2010 р.).- Харків, 2012. – С.11.
3. Сокольник С.В. Прогнозування характеру перебігу часто рецидивувальної виразкової хвороби дванадцятипалої кишки в дітей в залежно від розподілу генотипів генів інтерлейкінів та їх вмісту в стадії загострення / С.В. Сокольник// Междунар. ж. педіатрії, акушерства і гінекол. – 2012.-Т.2, №3.-С. 51-55.
4. Gottrand F. Abdominal pain and gastritis in children Rev Prat /Gottrand F.//J/ Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2011.-61(5)/
5. Сорокмакман Т.В. Імунологічна характеристика дітей із гастродуоденальним гелікобактеріозом /Т.В. Сорокмакман, Н.Є.Куцобіна, С.В. Сокольник, О.В. Макарова // Здоровье ребенка. -2010.-№1(22). –С. 12-15.
6. Сокольник С.В. Комплексна оцінка ролі цитокінів в патогенезі виразкової хвороби дванадцятипалої кишки в діте/С.В. Сокольник//Бук.мед.вісник. – 2012. –Т. 16, №4(64) –С. 206-209.
7. Шляхова Н.В. Изменение цитокинового профиля у здоровых детей и подростков на этапах полового созревания//Український журнал дитячої ендокринології. -2014.-№1.-1.-с.7.

References

1. Maydannik V. Bolezni organov pishchevareniya. K.; SP "Intertekhnodruk", 2010.- 1157s.
2. Abaturov O. Klinichni osoblivosti khelikobakternoi infektsii u ditey v zalezhnosti vid imunnoi vidpovidu makroorganizmu /O. Abaturov., O. Gerasimenko//Pediatrichna gastroenterologia i nutritsiologiya: Materiali naukovo-praktchnoi konferentsii z mizhnarodnoyu uchastyu (20-12 travnya 2010 r.). – Kharkiv, 2012.-S.11.
3. Sokol'nik S. Prognozuvannya kharakteru perebigu chaste retsidivival noi virazkovoї khvorobi dvanadtsyatipaloi kishki v ditey zalezhno vid rozpodilu genotipiv geniv intereylekiniv ta ikh vmistu v stadia zagostrennya / S.Sokol'nik// Mezhdunar.zh.pediatrii, akusherstva i ginekol. – 2012. –Т.2 №3.S. 51-55.
4. Gottrand F. Abdominal pain and gastritis in Rev Prat. / Gottrand F.// J/ Pediatr Gastroenterol Nutr.- 2011/- 61 (5).
5. Sorokmakman T. Immunologichna kharakteristka ditey iz gastroduodenal nim gelikobakteriozom / T. Sorokmakman, N. Kutsobina, S. Sokol'nik, O. Makarova //Zdorov ye rebenka. – 2010-№1(22) - S. 12-15.
6. Sokol'nik C. Kompleksna otsinka roli tsitokiniv v patogenezi virazkovoї khvorobi dvanadtsyatipaloi kishki v ditey /S.Sokol'nik//Buk.med.visnik.- 2012- T.16, №4(64)- S. 206-209.
7. Shlyahova N. Izmenenie tsitokinovoho profilya u zdorovikh detey I podrostkov na etapakh polovogo sozrevaniya// Ukrainsiy zhurnal dityachoi endokrinologii. – 2014-№1 - S.7.

Відомості про автора:

Ходаківська Світлана Петрівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії № 5 НМУ імені О.О. Богомольця; тел. 0986767828; дом. адреса: м. Київ, вул. Горького, 116, кв. 11; e-mail: p5nmu@ukr.net