

БИОМЕДИЦИНА ВА АМАЛИЁТ ЖУРНАЛИ ЖУРНАЛ БИОМЕДИЦИНЫ И ПРАКТИКИ JOURNAL OF BIOMEDICINE AND PRACTICE

Ойбек Эркузиевич Меликузиев

Ташкентский государственный
стоматологический институт, Узбекистан

СОСТОЯНИЕ МАРКЁРОВ СИСТЕМОЙ АКТИВАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ПНЕВМОКОККОВОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

For citation: Oybek Erkuzevich MELIKUZIEV CLINICAL ASPECTS OF THE PNEUMOCOCCAL PNEUMONIAE IN CHILDREN. Journal of Biomedicine and Practice. 2021, vol. 6, issue 1, pp.189-195

 <http://dx.doi.org/10.26739/2181-9300-2021-1-27>

АННОТАЦИЯ

Дана клиническая характеристика 47 больным с пневмококковой пневмонией в возрасте от 1 года до 7 лет. Анализ данных показал, что пневмококковая пневмония чаще встречается у детей в возрасте до 3 лет (42,5%). Использование современных тест-систем иммунохроматографический тест (Binax NOW S.pneumoniae тест) наряду с бактериологическим методом повышает этиологическую расшифровку пневмококковых пневмоний у детей. Активация нейтрофилов и выход из гранул эндогенных антимикробных, усугубляют течение пневмонии, способствуют более длительной пептидов (альфа-дефензины и кателицидины) в плазму крови, которые локально защищают эпителиальные клетки дыхательного тракта продолжительности и часто становятся одним из факторов микстинфицирования.

Ключевые слова: пневмококковая пневмония у детей, стрептококковая пневмония, пневмококковая инфекция, иммунохроматографический тест.

Ойбек Эрқўзиевич Мелиқўзиев

Тошкент давлат стоматология институти, Ўзбекистон

БОЛАЛАРДА ПНЕВМОКОККЛИ ЗОТИЛЖАМДА НЕЙТРОФИЛЛАРИНИНГ ТИЗИМЛИ ФАОЛЛАШИШ МАРКЁРЛАРИНИ ХОЛАТИ

ANNOTATION

1 ёшдан 7 ёшгача бўлган пневмококк зотилжам билан касалланган 47 беморнинг клиник тавсифлари берилган. Маълумотларни таҳлил қилиш шуни кўрсатдики, пневмококк зотилжам 3 ёшгача бўлган болаларда (42,5%) кўпроқ учрайди. Замонавий тест тизимларидан фойдаланиш иммунохроматографик тест (BinaxNOW S.pneumoniae тести) бактериологик усул билан биргаликда болаларда пневмококк зотилжамнинг этиологик талқинини кучайтиради. Нейтрофилларнинг фаоллашиши ва эндоген антимикробиял гранулаларнинг чиқиши, зотилжам жараёнини кучайтиради, қон плазмасида узунроқ пептидларни (альфа-дефенсинлар ва кателидсидинлар)

кўпайтиради, улар нафас олиш йўлларининг эпителий хужайраларини маҳаллий даражада химоя қилади ва кўпинча аралаш инфекциянинг омилларидан бирига айланади.

Калитли сўзлар: болаларда пневмококкли зотилжам, Streptococcus зотилжам, пневмококкли инфекция, иммунохроматографик тест.

Oybek Erkuzievich Melikuziev
Tashkent State Dental Institute, Uzbekistan

CLINICAL ASPECTS OF THE PNEUMOCOCCAL PNEUMONIAE IN CHILDREN

ANNOTATION

Clinical characteristics are given for 47 patients with pneumococcal pneumonia at the age from 1 to 7 years. Data analysis showed that pneumococcal pneumonia is more common in children under 3 years of age (42.5%). The use of modern test systems immunochromatographic test (Binax NOW S.pneumoniae test) along with the bacteriological method increases the etiological interpretation of pneumococcal pneumonia in children. The activation of neutrophils and the release of endogenous antimicrobial granules from the granules, aggravate the course of pneumonia, promote longer peptides (alpha-defensins and cathelicidins) in the blood plasma, which locally protect the epithelial cells of the respiratory tract, continuing and often becoming one of the factors of mixed infection.

Key words: pneumococcal pneumonia in children, streptococcal pneumonia, pneumococcal infection, immunochromatographic test.

Пневмококковая инфекция признается ВОЗ ведущей причиной заболеваемости и смертности во всех регионах мира. По данным ВОЗ ежегодно от пневмококковой инфекции умирают 1,6 млн. человек, из них от 700 тыс. до 1 млн. детей в возрасте до 5 лет, живущих, главным образом, в развивающихся странах [1,2,3]. Ежегодная частота встречаемости пневмококковых заболеваний варьирует от 10 до 100 случаев на 100тыс. населения [2,3,4,5].

Известно, что новорожденные дети получают от матери антитела ко многим типам пневмококка. Однако, по мере снижения уровней антител частота встречаемости пневмококковой пневмонии повышается со 2-го полугодия жизни. В дальнейшем, до 3-летнего возраста уровень антител к Streptococcus pneumoniae остается низким, достигая уровня взрослых только в школьном возрасте. Это делает группу детей до 5 лет особо восприимчивой к пневмококковой инфекции [1,2,6].

К сожалению, в ежедневной практике этиология пневмонии часто остается не установленной, что затрудняет проведение этиотропной терапии и обуславливает неблагоприятные исходы заболевания. По литературным данным, более 60% случаев назначение стартовой терапии при острых пневмониях бывает неэффективным, что приводит к развитию затяжного течения пневмоний и частым осложнениям, таким как ателектаз и плеврит.

В последние годы применяются различные методы идентификации S.pneumoniae у больных с внебольничной пневмонией. «Золотым стандартом» в постановке диагноза остается выделение S.pneumoniae из крови или плевральной жидкости бактериологическим методом, однако положительный результат при этом достигается лишь в 15-30% случаях [7].

Несмотря на наличие высокоэффективных антимикробных препаратов, разработку и внедрение их новых групп и классов, заболеваемость и летальность от пневмококковых инфекций сохраняется на высоком уровне.

Целью настоящего исследования явилось изучить характерные особенности изменений реактантов острой фазы и антимикробных пептидов, участвующих в поддержании и регуляции адаптивной иммунной системы организма детей при пневмококковой пневмонии.

Материалы и методы: Обследованы 97 детей с внебольничной пневмонией в возрасте от 1 года до 7 лет. У обследуемых больных детей анализировались анамнестические данные, клинические и лабораторные показатели, характеризующие основные клинические симптомы заболевания, гемограмма, рентгенограммы органов грудной клетки. С целью определения пневмококковой этиологии пневмонии проводили иммунохроматографический тест на наличие пневмококкового растворимого антигена в моче (Binax Now- Streptococcus pneumonia Test, США), посев крови на наличие *S. pneumoniae*.

Всем больным проводили бактериологический посев носоглоточной слизи на наличие *S.pneumoniae*. После забора материала проводился посев площадкой на чашки Петри с 5% кровяным колумбийским и шоколадным агаром. Идентификацию микробов проводили на основании морфологии колоний, результатов окраски по Грамму, чувствительности к оптохину и пробирочного теста лизиса в присутствии 10% дезоксихолата натрия. Определение чувствительности выделенных возбудителей методом микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона проводилось к следующим препаратам: пенициллину, амоксициллину, ампициллину, амоксициллину/клавуланату, цефотаксиму, цефтриаксону, цефоперазону, цефипиму, цефазолину, азитромицину, хлорамфениколу, ванкомицину, эритромицину, сульфаметаксозолу, ципрофлоксацину.

С помощью иммунохроматографического теста BinaxNOW определяли растворимый антиген *S.pneumoniae* в моче (чувствительность теста 70-90% и специфичность 80-100%) [7]. BinaxNOW в отличие от конкурентных тестов, где обнаруживают капсульный антиген, определяет полисахарид С на стенке клетки-антигена, 4-х наиболее распространенных серогрупп (6, 14, 19 и 23) [8]. Тест проводили больным в первый день госпитализации, которые не принимали антибактериальные препараты или получали антибиотики не более 2-х доз. Содержащийся в исследуемом образце антиген *S.pneumoniae* связывается с находящимися на подложке антителами окрашенного конъюгата, и окрашенный комплекс антиген-конъюгат связывается за счет наличия антигена с иммобилизованными на мембране кроличьими антителами к антигену *S.pneumoniae*, формируя окрашенную линию. Иммобилизованные на полоске козьи антитела против IgG кролика также связывают окрашенный конъюгат, формируя контрольную линию. Окрашивание развивается в течение 15 мин.

В сыворотке крови исследовали концентрацию С- реактивного белка, неоптерина, альфа-дефезина, кателицидина и белка связывающего липосахариды используя ИФА тест системы «IBL» и «НВТ» компании БиоХимМак (Россия). Результаты иммуноферментного анализа выражались в мкг/мл, нмоль/л и нг/мл. Содержание реактантов острой фазы воспаления (комплемент С3, фактор-В, трансферрин, церулоплазмин) в сыворотке крови исследовали на биохимическом анализаторе используя наборы компании “HUMAN” и выражали в мг/дл.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программ Statistika 6.1. (Stat.Soft.), за критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался $P \geq 0,05$.

Результаты исследования: Из 97 больных с внебольничной пневмонией пневмококковая этиология идентифицирована у 47 детей, что составило 48,4% случаев. Количество больных мальчиков было 25, превышало количество девочек - 22, но достоверной разницы ($p > 0,05$) между больными по половой принадлежности мы не обнаружили.

Возрастная характеристика детей с пневмококковой пневмонией показала, что чаще заболеваемость отмечалась в возрасте от 1 года до 3 лет (42,5%), что совпадает с началом посещения ребенком детского дошкольного учреждения. Количество неорганизованных было 18 ребенка, воспитанников детских садов и школ составило – 29 больных.

Диагноз пневмонии основывался на общепринятых критериях: синдром токсикоза, дыхательная недостаточность, локальные физикальные данные, инфильтративные изменения на рентгенограмме. Признаки инфекционного токсикоза имелись у 84,3% детей, и характеризовались: повышением температуры тела до высоких цифр (более 40,0°C) у 12,9% детей, до фебрильных (38,0-39,9°C) – 66,2%, до субфебрильных (37,1-37,9°C) – у 29,1%, у

15,8% лихорадка в момент госпитализации не отмечалась. Средняя длительность лихорадочного периода составила $5,6 \pm 3,7$ дней. Симптом кашля отмечался у 96,6% детей, средняя продолжительность периода кашля колебалась в пределах $17,2 \pm 2,5$ дней. Признаки дыхательной недостаточности зарегистрированы у 51,7% детей.

У всех детей с пневмококковой пневмонией отмечены жалобы на вялость, слабость, сонливость, адинамию, нарушение аппетита, капризность.

Локальные физикальные изменения зарегистрированы у 87,0% детей. При этом притупление перкуторного звука над очагом поражения отмечено у 62,5% детей. Изменение характера дыхания над очагом поражения в виде ослабления имели 58,5% ребенка, жесткое дыхание зарегистрировано у 24,4% детей. Локальные влажные хрипы и крепитация выявлены у 63,2% детей.

Одним из звеньев патогенеза пневмонии у детей является интоксикация организма, причинами которой являются деструктивные процессы, сопровождающиеся выходом в циркуляцию тканеспецифических антигенов, появлением в крови сенсibilизированных лимфоцитов и аутоантител. Важную роль при этом играют системная гиперпродукция цитокинов, обладающих способностью вызывать изменения на уровне сосудистого эндотелия, повышая его проницаемость, активируя молекулы клеточной адгезии. Последнее способствует появлению в очаге воспаления хемиаттрактантов и синтезом гепатоцитами печени медиаторов воспаления, в частности, С-реактивного белка, трансферрина, церулоплазмينا, белка связывающего липополисахариды и т.д.

Анализ полученных результатов исследования, представленной в таблице 1 показал, что у больных детей с пневмококковой пневмонией наблюдается достоверный рост уровня С-реактивного белка в среднем в 54 раза и была равна $233,3 \pm 12,4$ мкг/мл. Схожая динамика отмечена и относительно реактантов острой фазы воспаления трансферрин и церулоплазмин, где их показатели у обследуемых больных детей превысили исходный уровень соответственно в 2,5 раза и в 1,4 раза против показателей группы контроля ($P < 0,05$).

К белку острой фазы, продуцируемой гепатоцитами относится белок, связывающий липополисахарид. Как видно, из представленных результатов исследования (табл.1), уровень изучаемого показателя у больных детей с пневмококковой пневмонией превысило исходный показатель в 30 раз и составил $46,7 \pm 4,13$ мг/дл ($P < 0,05$). Усиленный синтез гепатоцитами печени белка, связывающего липополисахарид способствует образованию комплекса (LBP и ЛПС), на которую реагирует CD-14 и рецепторный компонент комплемента C3. Последний включает альтернативный путь активации системы компонентов комплемента с последующей активацией комплемента C3, обладающего опсонизирующим свойством и активирующим процесс фагоцитоза. В активации альтернативного пути участвует также фактор В системы пропердина.

Таблица 1

Показатели эндогенных антимикробных пептидов и реактантов острой фазы воспаления у больных детей пневмококковой пневмонией

Показатель	Здоровые дети (контроль) n=12	Больные дети с пневмококковой пневмонией n=47
С-реактивный белок мкг/мл	$4,31 \pm 0,22$	$233,2 \pm 12,4$ *
Неоптерин нМоль/л	$5,63 \pm 0,44$	$41,8 \pm 3,12$ *
Компонент комплемента C3 мг/дл	$166,4 \pm 8,01$	$55,9 \pm 4,31$ *
Фактор пропердина В мг/дл	$24,8 \pm 1,74$	$12,3 \pm 1,04$ *

Трансферрин мг/дл	168,3±9,04	412,5±11,4 *
Церулоплазмин мг/дл	24,1±1,56	32,6±2,07 *
Белок связывающий липосахарид мг/дл	1,54±0,13	46,7±4,13 *
α- Дефензин нг/мл	36,4±2,31	176,3±11,03 *
Кателицидин нг/мл	1,53±0,12	3,79±0,21 *

Примечание: * -достоверность различий $P < 0,05$ при сравнении с контролем.

Анализ полученных результатов исследования указывает на усиленное вовлечение в этот процесс компонента комплимента С3 и фактора В пропердина, что приводит к истощению их. Выявлено снижение уровня компонента С3 в 3 раза и фактора В в 2 раза при сравнении с исходными значениями ($P < 0,05$), что указывает на неполноценную опсанизацию пневмококков.

В последнее время к числу эндогенных антимикробных пептидов относят катионный пептид-альфа-дефензины и кателицидины, которые локально защищают эпителиальные клетки дыхательного тракта и функционируют в качестве хемотоксического агента для нейтрофилов, моноцитов и Т-клеток. Альфа-дефензины и кателицидины синтезируют и содержатся в гранулах нейтрофилов. Активация нейтрофилов приводит к быстрому высвобождению из них дефензинов и кателицидинов, которые обнаруживаются в плазме.

Как показал анализ полученных результатов исследования (табл.1), в сыворотке крови обследуемых больных детей отмечен достоверный рост изучаемых эндогенных антимикробных пептидов, в частности альфа-дефензина в 4,8 раза и кателицидина в 2,5 раза ($P < 0,05$).

В последние годы большое внимание уделяют изучению более стабильных лабораторных показателей, которые отражают динамику зависящего от цитокинов воспаления. Наряду с уровнем С-реактивного белка, к таким показателям относят уровень неоптерина. В свою очередь, увеличение неоптерина в сыворотке крови отражает активацию клеточного иммунитета, где основным прадуцептом его являются моноциты/макрофаги, α-ФНО, Th-1 цитокины.

Анализ полученных результатов исследования показал на достоверный рост содержания неоптерина в сыворотке крови в среднем в 7,4 раза при сравнении с группой контроля, что указывает на активацию макрофагальной системы.

Обсуждение: Удельный вес пневмококковых инфекций в структуре инфекционной патологии детского возраста имеет постоянный рост. В данной ситуации немаловажное значение имеют врожденные и приобретенные дефекты в системе элиминации бактериальных антигенов, дефекты сурфактантной активности нейтрофилов и альвеолярных макрофагов и многие другие.

Снижение фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и нейтрофилов приводит к внутриклеточному паразитированию пневмококков, диссеминации и прогрессированию воспалительного процесса в легких, развитию реологических и гемодинамических нарушений, вплоть до возникновения ДВС крови, острой надпочечниковой недостаточности, отека и набухания веществ мозга.

Молекулярными эффекторами системы неспецифической защиты респираторного тракта, кроме активных радикалов азота и кислорода, являются ферменты, металлосвязывающие белки, ингибиторы протеаз, бактериоцидные белки, увеличивающие проницаемость мембран, антимикробные пептиды, непосредственно повреждающие инфекционные агенты и др. В данной ситуации определение антимикробных пептидов,

реагентов острой фазы воспаления и факторов гуморального иммунитета может быть полезно в клинической лабораторной практике.

Как маркер системной активации нейтрофилов, систем хемотаксиса, опсонизации, фагоцитоза и лизиса, при мониторинге за течением инфекционных и воспалительных заболеваний.

Выводы:

1. Внебольничная пневмония, пневмококковой этиологии идентифицирована у 48,4% детей на момент обследования. Чаще пневмококковая пневмония встречалась у детей в дошкольном и школьном возрасте.
2. Примененный тест VnaxNOW позволяет идентифицировать пневмококковую этиологию пневмонии на ранних этапах болезни. Высокая частота антибактериальной терапии на догоспитальном этапе, значительно снижает результативность различных методов исследования, в том числе и высокочувствительного иммунохроматографического теста у госпитализированных пациентов, что делает целесообразным более широкое использование этого метода диагностики на догоспитальном этапе.
3. У больных детей с пневмонией пневмококковой этиологии, отмечено повышение уровня реактивов острой фазы воспаления (С-реактивный белок, трансферрин, церулоплазмин, неоптерин).
4. Повышение медиаторов воспаления активирует альтернативный путь системы комплемента, что приводит к истощению последнего и неполноценной опсонизации пневмококков.
5. У обследуемых детей отмечена активация нейтрофилов и выход из гранул эндогенных антимикробных пептидов (альфа-дефензины и кателицидины) в плазму крови, которые локально защищают эпителиальные клетки дыхательного тракта.
6. Вышеуказанные патогенетические особенности пневмококковой пневмонии усугубляют течение болезни, способствуют более длительной продолжительности и часто становятся одним из факторов микст-инфицирования.

Список использованной литературы

1. Geppe N.A. «Pnevmonokokkovaya infektsiya dykhatel'noy sistemy v detstve» / N.A. Geppe, A. Malakhov // *Prakticheskoye rukovodstvo dlya vrachey*. Moskva. - 2005.
2. Kozlov R.S. Pnevmonokki: proshloye, nastoyashcheye i budushcheye. Smolenskaya meditsinskaya akademiya. 2005.-128 s.
3. Katosova L.K. Kliniko-biologicheskaya otsenka pnevmotropnoy flory pri ostrykh i khronicheskikh bronkholegochnykh zabolevaniyakh u detey. Avtoreferat. diss. Kandidat nauk. - M. - 1992.
4. Samsygina G.A. Prognozirovaniye tyazhesti i iskhoda techeniya pnevmonii u detey rannego vozrasta / G.A. Samsygina, T.YA. Medvedeva // *Sbornik materialov XI s"yezda pediatrov Rossii «Aktual'nyye problemy pediatrii»*. - M. : - 2008. - 296 s.
5. *Vestnik laboratorii DNK diagnostiki 2011 fevral' №1(10)*
6. Vorontsova N.L. Endogennaya intoksikatsiya u bol'nykh IBS do i posle koronarnogo shuntirovaniya // *Efferentnaya terapiya*. — 2011. — Т. 17. — № 4. — S. 68—74.
7. Kelina N.YU. Biokhimicheskiye proyavleniya endotoksikoza: metodicheskiye aspekty izucheniya i otsenki, prognosticheskaya znachimost' (analiticheskiy obzor) / N.YU. Kelina, N.V. Bezruchko, G.K. Rubtsov // *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta*. — 2012. — № 6. — S. 143—147.
8. Maslov A.I. Kotsentratsiya srednemolekulyarnykh peptidov v plazme i syvorotke krovi u bol'nykh bronhial'noy astmoy i khronicheskoy obstruktivnoy boleznyu legkikh / A.I. Maslov, D.V. Vasilenko, V.V. Alabovskiy // *Allergologiya i immunologiya*. — 2007. — Т. 8. — № 1. — S. 85.13.Pritulina YU.G. i dr. Laboratornyye osobennosti pnevmoniy razlichnoy etiologii

- //Dostizheniya, perspektivy diagnostiki, lecheniya i profilaktiki infektsionnoy i somaticheskoy patologii: sb. nauchn. tr. – Voronezh, 2012. – S. 96-98.
9. Pritulina YU.G., Sakharova L.A., Monastyrskiy A.A. Effektivnost' razlichnykh variantov protivovirusnoy terapii grippa // Dostizheniya, perspektivy diagnostiki, lecheniya i profilaktiki infektsionnoy i somaticheskoy patologii: sb. nauchn. tr. – Voronezh, 2012. – S. 98-99.
 10. Tsvetkova L.N., Boyev K.V., Kulakovskiy V.A., Ramazanov N.A., Tekeyev A.S. Laboratornaya otsenka khronicheskogo endotoksikoza u bol'nykh s pnevmoniyey i khronicheskoy obstruktivnoy boleznyu legkikh. // sbornik statey po materialam mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. «Sovremennaya meditsina: aktual'nyye voprosy», 2013 g.
 11. Fliser D., Laville M., Covic A., et al. A European Renal Best Practice (ERBP) position statement on the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Clinical Practice Guidelines on Acute Kidney Injury: part 1: definitions, conservative management and contrast-induced nephropathy//Nephrol Dial Transplant. – 2012. – Vol. 0. – P. 1-10.
 12. WHO Weekly Epidemiological Record. 12 January 2011, No. 1/2, 2011, 82, 93–104. World Health Organization. <http://www.who.int/wer>
 13. Black S. Postlicensure surveillance for pneumococcal invasive disease after use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Northern California Kaiser Permanente. S. Black, H. Shinefield, Baxter R., et al. Pediatrics Infect Dis J. 2004; 23:485–489.
 14. Dowell S. Evaluation of Binax NOW, an assay for the detection of pneumococcal antigen in urine samples, performed among pediatric patients / S.Dowell, R.Garman, G.Liu et al. // Clinical Infectious Diseases. 2001. - 32. - P. 824-825
 15. N. Cetron, M. Martin, J. Butler, D. Jernigan, M. Alexander Chapter 9: Pneumococcal Disease.