

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

Изюрова Н.В.¹, Савочкина А.Ю.¹, Узунова А.Н.¹, Нохрин Д.Ю.²

¹ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

² ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Резюме. Внебольничная пневмония относится к числу наиболее распространенных острых инфекционных заболеваний. Заболеваемость внебольничной пневмонией среди детского населения значительно снизилась во всем мире, главным образом, из-за все более широкого использования эффективных средств профилактики. Тем не менее внебольничная пневмония остается распространенной причиной детской заболеваемости и смертности. Пневмония может развиваться в любом возрасте, но чаще всего она возникает у детей раннего возраста, у которых чаще встречается и более тяжелое течение пневмонии. Ранняя диагностика и прогноз тяжести заболевания у детей являются актуальной проблемой на современном этапе. Было обнаружено, что в большинстве случаев комбинация традиционных биомаркеров, включая количество лейкоцитов, прокальцитонин, СРБ недостаточно эффективны в диагностике внебольничной пневмонии у детей. Актуальным является поиск новых маркеров, позволяющих в дополнение к клинической оценке существенно улучшить диагностику и ведение внебольничной пневмонии у детей и уменьшить неблагоприятные исходы, связанные с этим заболеванием. Такими маркерами могут стать цитокины, которые являются активными участниками патогенеза при внебольничной пневмонии. Целью данного исследования стало определение уровня ряда цитокинов в сыворотке крови у детей с ВП и оценка изменения цитокинового профиля в зависимости от влияния факторов: возраст пациента и тяжесть заболевания. В исследовании были включены 117 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с верифицированным диагнозом внебольничной пневмонии, подтвержденной рентгенологически. Группа сравнения сформирована из 28 здоровых детей, не имеющих на момент обследования внебольничной пневмонии, а также других признаков острой респираторной вирусной инфекции и не состоящих на диспансерном наблюдении по поводу какой-либо хронической патологии. Были определены уровни следующих цитокинов в сыворотке крови: IL-1 β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF с помощью тест-систем, основанных на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы в качестве индикаторного фермента. В результате проведенного исследования было установлено, что содержание IL-6, IL-17AF, IL-1 β , IFN γ , MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF было значительно выше в группе детей с тяжелой внебольничной пневмонией. Уровень таких цитокинов, как IL-6, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF изменялся в зависимости от возраста пациентов, что может отражать степень активации иммунной системы у детей в различные возрастные периоды.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, тяжелая пневмония, дети, цитокины, интерфероны, маркеры пневмонии

Адрес для переписки:

Изюрова Наталья Владимировна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ,
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел.: 8 (963) 081-46-78.
E-mail: Natusaz@live.ru

Address for correspondence:

Iziurova Natalia V.
South Ural Medical State University
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.
Phone: 7 (963) 081-46-78.
E-mail: Natusaz@live.ru

Образец цитирования:

Н.В. Изюрова, А.Ю. Савочкина, А.Н. Узунова,
Д.Ю. Нохрин «Цитокиновый профиль при
внебольничной пневмонии у детей» // Медицинская
иммунология, 2022. Т. 24, № 5. С. 943-954.
doi: 10.15789/1563-0625-CPI-2538

© Изюрова Н.В. и соавт., 2022

For citation:

N.V. Iziurova, A.Yu. Savochkina, A.N. Uzunova,
D.Yu. Nokhrin "Cytokine profile in community-acquired
pneumonia in children", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 5,
pp. 943-954. doi: 10.15789/1563-0625-CPI-2538

DOI: 10.15789/1563-0625-CPI-2538

CYTOKINE PROFILE IN COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN

Iziurova N.V.^a, Savochkina A.Yu.^a, Uzunova A.N.^a, Nokhrin D.Yu.^b

^a South Ural Medical State University, Chelyabinsk, Russian Federation

^b Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Community-acquired pneumonia (CAP) is one of the most common acute infectious diseases. To date, the incidence of CAP among children was decreased significantly worldwide, mainly due to increasing use of effective preventive measures. Nevertheless, CAP remains a common cause of childhood morbidity and mortality. Pneumonia may develop at any age, but most often it occurs in young children, who are more likely to have a more severe course of pneumonia. Currently, early diagnosis and prognosis of the disease severity in children is an urgent issue. It was found that, in most cases, a panel of conventional biomarkers, including the number of leukocytes, procalcitonin, CRP is not sufficient for the diagnosis of pediatric CAP. There is a demand for new biological markers which, along with clinical evaluation, may significantly improve diagnostics and management of CAP in children, thus reducing the risk of adverse outcomes associated with this disease. Such markers could be found among the cytokines, which are active participants in the CAP pathogenesis. The aim of this study was to determine the level of several cytokines in blood serum of children with CAP and to assess changes in the cytokine profile depending on the patient's age and severity of the disease. The study included 117 children aged 1 to 18 years with a diagnosis of CAP confirmed by X-ray examination. The comparison group included 28 healthy children who did not have CAP or other signs of acute respiratory viral infection at the time of examination, being free of any chronic pathology requiring outpatient observation. A number of cytokines were determined quantitatively in blood serum, i.e., IL-1 β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF using test systems based on the "sandwich" method of solid-phase ELISA using peroxidase labeling. As a result, it was found that the content of IL-6, IL-17AF, IL-1 β , IFN γ , MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF was significantly higher in the group of children with severe community-acquired pneumonia. The levels of certain cytokines, e.g., IL-6, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF varied depending on the age of patients, thus, probably, reflecting the degree of immune system activation in the children of different age groups.

Keywords: community-acquired pneumonia, severe pneumonia, children, cytokines, interferons, pneumonia markers

Введение

Внебольничная пневмония (ВП) является актуальной проблемой для педиатрической практики. Несмотря на значительные успехи, которые были достигнуты в понимании факторов риска и этиологии пневмонии, в разработке основных аспектов патогенеза, стандартизованных методов лечения, пневмония остается одной из ведущих причин детской смертности [1]. Остается высокой и заболеваемость пневмонией у детей и подростков повсеместно, особенно в возрасте до 5 лет. Ежегодно в мире регистрируется приблизительно 150 миллионов случаев пневмонии у детей в возрасте до 5 лет [1, 4, 30].

Как известно, на развитие ВП у детей влияют многочисленные факторы. В течение многих лет как факторы, влияющие на клиническое течение и прогноз пневмонии у детей раннего возраста,

рассматривалась так называемая «фоновая» патология, а именно рахит, белково-энергетическая недостаточность, перинатальное гипоксическое поражение ЦНС и другие. Улучшение работы амбулаторного звена по профилактике данной патологии уменьшили ее значимость как ведущей при формировании пневмонии. На оценку прогноза и тяжести пневмонии влияют различные тяжелые заболевания у детей, врожденные пороки развития, наличие иммунного дефицита, связанного с аутоиммунными заболеваниями, аутовоспалительным синдромом, ВИЧ-инфекция. На тяжесть пневмонии оказывают влияние наличие хронических очагов инфекции, частые респираторные заболевания [3, 18].

С методологической позиции, природу пневмонии следует оценивать, как своеобразный динамический процесс воздействия микроорганизма/ассоциации микробов, их последовательного

воздействия и противоинфекционной защиты макроорганизма [5]. Нарушение бронхиальной проходимости, альвеолярной вентиляции и перфузии способствуют развитию той или иной степени тяжести ВП, за счет снижения газообмена в тканях и органах у детей. По степени тяжести внебольничная пневмония подразделяется на тяжелую и нетяжелую [4].

При развитии пневмонии идет постоянная смена причинно-следственных взаимодействий, изменяется значимость вклада в патогенез этиологических факторов как таковых и состояние противоинфекционной защиты организма ребенка. Это вызвано прежде всего тем, что в детском возрасте идет созревание иммунной системы, неотрывно связанное с периодом детства, т. е. с возрастом [2].

Большое значение в развитии внебольничной пневмонии играет противоинфекционная защита, в первую очередь состояние врожденного иммунитета, факторов как клеточного, так и гуморального его звеньев.

Незрелая иммунная система делает детей особенно восприимчивыми к инфекциям. Поэтому оценка тяжести ВП у детей имеет решающее значение для улучшения решений по оказанию медицинской помощи и своевременного осуществления адекватного лечения. Биомаркеры воспаления, такие как прокальцитонин (PCT) и С-реактивный белок (СРБ), были описаны у детей как маркеры, связанные с тяжелой пневмонией. Однако данные показатели являются неспецифическими и отражают тяжесть не только при пневмонии у детей, но и при других тяжелых бактериальных инфекциях, системных заболеваниях соединительной ткани, сепсисе и т. д. По данным некоторых исследований, использование прокальцитонина в качестве метода диагностики при внебольничной пневмонии у детей, имеет малую доказательную базу [7]. Актуальным является поиск новых маркеров, позволяющих в дополнение к клинической оценке существенно улучшить диагностику и ведение ВП у детей и уменьшить неблагоприятные исходы, связанные с этим заболеванием [10, 23]. Возможно, такими маркерами могут стать цитокины, которые могут активировать В-клетки, Т-клетки и NK-клетки для инициирования и усиления воспалительного/иммунного ответа, обеспечивая, таким образом, важнейшие функции в защите хозяина от бактериальных и вирусных инфекций [14, 15, 26].

Цитокины являются неспецифическими полипептидными молекулами, вырабатываемыми преимущественно активированными клетками иммунной системы. Количественная оценка ци-

токинов имеет важное значение в клинической практике, поскольку определение уровня цитокинов дает представление о физиологических и патологических процессах и используется для диагностики и лечения заболевания [20].

Цитокины измеряются в различных жидкостях организма, включая кровь, слюну, слезы, мочу и стул. Кровь близка к внутренней среде человека, отражая состояние отдельных клеток, тканей, органов и организма в целом. Анализ уровня цитокинов в клинических образцах крови, особенно в плазме или сыворотке, важен для диагностики заболевания, поскольку незначительное изменение уровня может отражать состояние иммунной функции [19]. Провоспалительные цитокины, включая IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и интерфероны, облегчают воспалительные реакции и, как правило, стимулируют иммунокомпетентные клетки. Напротив, противовоспалительные цитокины, такие как IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13 ингибируют воспаление и подавляют иммунные клетки [20].

По данным различных исследований, была выявлена взаимосвязь между увеличением уровня определенных цитокинов в сыворотке крови и тяжестью воспалительного процесса, в том числе и при пневмонии. В частности, в ряде исследований установлено, что увеличение уровня IL-4, IL-6, IL-8, IL-1 β , IL-17, GM-CSF в сыворотке крови может быть связано с тяжестью пневмонии у детей [9, 14, 15, 21, 24, 26].

Доказана роль IL-6 как маркера, отражающего тяжесть внебольничной пневмонии и раннего прогностического маркера исхода данного заболевания, поскольку возможно, что тяжелая ВП имеет общие черты воспаления с септическим состоянием [6, 10]. В некоторых исследованиях изучалась роль интерферона III типа, также известного как IFN λ , как фактора, участвующего в противомикробной защите дыхательных путей [31]. В исследованиях последних лет моноцитарный хемоаттрактантный белок (MCP-1) указывается как фактор, отражающий тяжесть инфекционного процесса при ВП и может быть использован в качестве диагностического маркера [32].

Предыдущие исследования цитокиновых профилей при внебольничной пневмонии у детей в основном основывались на анализе только нескольких цитокинов и у детей только в одной возрастной группе. Профили некоторых цитокинов представлены только у взрослых. В связи с этим исследование уровня цитокинов в сыворотке крови у детей с внебольничной пневмонией является актуальным, поскольку их опреде-

ление может быть использовано в клинической практике. Возможно, ни один из существующих маркеров не даст полную клиническую и диагностическую картину, только панель из нескольких маркеров поможет улучшить диагностический поиск и улучшить тактику ведения пациентов с ВП.

Цель исследования – определить уровень ряда цитокинов в сыворотке крови у детей с ВП и оценить изменения цитокинового профиля в зависимости от влияния факторов: возраст пациента и тяжесть заболевания.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели нами проведен анализ и обобщение результатов собственных исследований и обследования 117 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с верифицированным диагнозом внебольничной пневмонии, подтвержденной рентгенологически. Все дети находились на стационарном лечении в отделениях респираторных инфекций и отделениях реанимации МБУЗ ДГКБ № 7 и МАУЗ ДГКБ № 8 г. Челябинска. Группа сравнения сформирована из 28 здоровых детей, не имеющих на момент обследования внебольничной пневмонии, а также других признаков острой респираторной вирусной инфекции и не состоящих на диспансерном наблюдении по поводу какой-либо хронической патологии.

Для оценки тяжести пациентов с ВП использованы критерии степени тяжести у детей с внебольничной пневмонией, представленных в клинических рекомендациях 2022 года. Тяжелая внебольничная пневмония характеризуется кашлем или одышкой, наличием цианоза или $SpO_2 < 90\%$, ДН II и более степени, системными опасными признаками (нарушение микроциркуляции, нарушение сознания, судороги), а также наличием осложнений (деструктивная пневмония, плеврит и пр.) [4].

Иммунологические лабораторные исследования выполнялись на базе НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава РФ. В ходе проведенного исследования были определены уровни 13 цитокинов: IL-1 β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF.

Для определения уровня IL-1 β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , IL-8, MCP-1 использованы тест-системы АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), IL-17AF, GM-CSF применялась система ELISA Kit Bender MedSystems (GmbH Campus Vienna Biocenter 2, Вена, Австрия). Для определения уровня IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B)

использована тест система OmniKine™ ELISA Kit (Assay Biotechnology Company, Inc. Fremont, США). Исследование проводилось по методикам, приложенным к тест-системам. Эти тест-системы основаны на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы в качестве индикаторного фермента. Учет результатов проводили на ИФА анализаторе. Результаты выражались в пг/мл.

В ходе статистического анализа группы детей сравнивали в модели двухфакторного дисперсионного анализа с фиксированными факторами «Группа» (3 градации: дети с ВП нетяжелой – 88 детей, дети с тяжелой ВП – 29 детей, группа сравнения – здоровые дети – 28 детей) и «Возраст» (4 градации – дети были поделены на 4 возрастные группы: 1-я группа – дети с 1 года до 3 лет, 2-я группа – дети с 4 до 7 лет, 3-я группа – дети с 8 до 12 лет, 4 группа – дети с 13 до 18 лет). Все дети были сопоставимы по полу и возрасту.

Поскольку распределения концентраций цитокинов были асимметричными и существенно отличались от нормального распределения, данные предварительно преобразовывали с помощью нормализующего преобразования Бокса–Кокса [27] в пакете PAST (v. 4.06b [13]), а значение параметра λ выписывали. Апостериорные сравнения групп в рамках дисперсионного комплекса проводили по Тьюки. Для построения графиков групповые средние с 95%-ными доверительными интервалами (95% ДИ), рассчитанными для модели дисперсионного анализа, ретрансформировали в исходную шкалу концентраций (в пг/мл) с помощью соответствующего значения λ . Статистически значимыми считали эффекты при $p \leq 0,05$. Расчеты выполнены в пакете IBM SPSS (v. 23), графические построения – в пакете KyPlot (v. 6.0.3 [33]).

Результаты

По данным проведенного исследования средний ($\pm SD$) возраст детей с ВП составил 7,35 ($\pm 4,89$) года и из включенных детей 64 человека (54,7%) были мальчиками. Доля детей с тяжелой пневмонией составила 24,8% (29 человек).

В таблице 1 представлены концентрации цитокинов в группе внебольничной пневмонии тяжелой и нетяжелой и в группе сравнения.

Все дети с внебольничной пневмонией, независимо от тяжести, имели достоверно более высокие уровни всех изучаемых цитокинов по сравнению с группой сравнения.

При сравнении групп детей с нетяжелой и тяжелой пневмонией установлено, что уровень большинства цитокинов (IL-6, IL-17AF, IL-1 β ,

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ (пг/мл) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ И В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CONCENTRATION OF CYTOKINES (pg/mL) IN THE BLOOD SERUM OF CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AND IN THE COMPARISON GROUP, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Цитокины (пг/мл) Cytokines (pg/mL)	Группа сравнения Comparison group (A) (n = 28)	Нетяжелая пневмония Non-severe pneumonia (B) (n = 88)	Тяжелая пневмония Severe pneumonia (C) (n = 29)
IL-1 β	3,15 (2,91-3,59)	3,20 (0,48-17,18) (p_{A-B, C} < 0,001)	3,78 (2,57-9,29) (p_{B-C} = 0,031)
IFN γ	1,60 (1,02-1,89)	2,62 (0,98-16,05) (p_{A-B, C} < 0,001)	2,92 (1,02-16,78) (p_{B-C} = 0,04)
IL-6	1,08 (0,11-3,76)	1,30 (0,001-53,810) (p_{A-B, C} = 0,019)	2,32 (0,26-53,81) (p_{B-C} = 0,033)
IL-4	1,75 (1,58-2,03)	2,03 (1,01-61,74) (p_{A-B, C} < 0,001)	2,09 (1,01-14,35)
IL-2	1,69 (1,03-2,26)	2,07 (0,75-7,17) (p_{A-B, C} < 0,001)	2,64 (0,18-5,66)
IL-10	1,79 (1,41-2,38)	1,98 (0,01-18,23) (p_{A-B, C} = 0,009)	3,01 (0,84-18,23) (p_{B-C} = 0,001)
IL-8	3,59 (2,10-229,73)	49,12 (0,78-503,26) (p_{A-B, C} < 0,001)	52,65 (2,10-503,26)
IL-17AF	2,31 (1,15-7,53)	8,69 (0,001-120,830) (p_{A-B, C} < 0,001)	8,11 (1,15-73,61) (p_{B-C} = 0,003)
TNF α	1,40 (0,31-1,90)	1,68 (0,31-4,50) (p_{A-B, C} < 0,001)	1,68 (0,68-2,77)
MCP-1	18,96 (0,86-358,77)	118,96 (2,58-1113,20) (p_{A-B, C} = 0,003)	173,52 (2,580-1113,208) (p_{B-C} < 0,001)
GM-CSF	2,45 (1,56-3,56)	3,34 (1,56-53,72) (p_{A-B, C} < 0,001)	4,23 (1,78-27,23) (p_{B-C} < 0,001)
IFN λ 2 (IL-28A)	12,83 (6,75-379,93)	494,99 (5,40-8218,62) (p_{A-B, C} < 0,001)	1061,25 (4,05-3152,67) (p_{B-C} = 0,012)
IFN λ 3 (IL-28B)	13,67 (5,46-21,68)	20,41 (10,15-2090,51) (p_{A-B, C} < 0,001)	26,36 (3,90-70,72) (p_{B-C} = 0,004)

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия. p_{A-B, C} – различия между исследуемыми показателями группы А от группы В, С; p_{B-C} – различия между исследуемыми показателями группы В от группы С.

Note. Statistically significant differences are highlighted in bold. p_{A-B, C}, differences between the studied indicators of group A from group B, C; p_{B-C}, differences between the studied indicators of group B from group C.

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ДВУХФАКТОРНОГО ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ И ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ

TABLE 2. RESULTS OF A TWO-FACTOR ANALYSIS OF VARIANCE OF CHANGES IN THE CONCENTRATION OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM IN CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AND THE COMPARISON GROUP

Источник изменчивости Source of variability	Сумма квадратов Sum of squares SS	Степени Свободы Degrees of Freedom df	Средний квадрат Middle Square MS	F-критерий F-criterion	p
IL-6					
Фактор «Группа» The "Group" factor	24,598	2	12,299	8,21	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	12,626	3	4,209	2,81	0,042
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	21,610	6	3,602	2,40	0,031
Ошибка Error	199,321	133	1,499	–	–
IL-17AF					
Фактор «Группа» The "Group" factor	43,583	2	21,792	7,68	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	8,745	3	2,915	1,03	0,383
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	26,909	6	4,485	1,58	0,157
Ошибка Error	377,225	133	2,836	–	–
IL-28A					
Фактор «Группа» The "Group" factor	771,070	2	385,535	29,41	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	66,278	3	22,093	1,69	0,173
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	111,287	6	18,548	1,41	0,213
Ошибка Error	1743,592	133	13,110	–	–
IL-28B					
Фактор «Группа» The "Group" factor	1,525	2	0,762	20,11	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	0,039	3	0,013	0,34	0,797
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	0,890	6	0,148	3,91	0,001
Ошибка Error	5,042	133	0,038	–	–
GM-CSF					
Фактор «Группа» The "Group" factor	0,910	2	0,455	13,77	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	0,462	3	0,154	4,66	0,004
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	0,645	6	0,108	3,25	0,005
Ошибка Error	4,394	133	0,033	–	–
MCP-1					
Фактор «Группа» The "Group" factor	433,360	2	216,680	11,17	< 0,001
Фактор «Возраст» The "Age" factor	24,820	3	8,270	0,43	0,734
Совокупное влияние факторов Cumulative influence of factors	59,640	6	9,940	0,51	0,798
Ошибка Error	2578,990	133	19,390	–	–

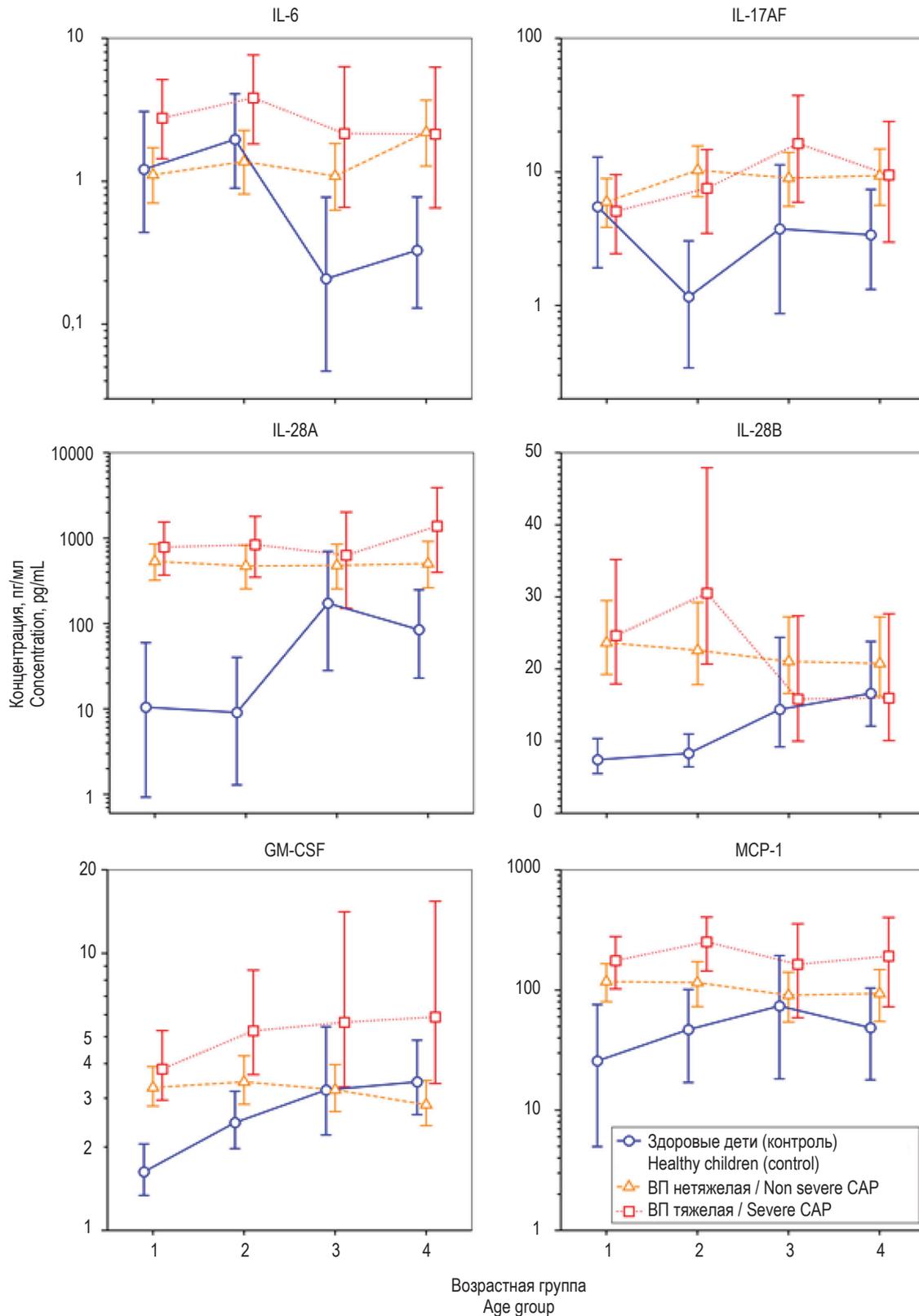


Рисунок 1. Результаты анализа цитокинов в сыворотке крови у детей с внебольничной пневмонией и в группе сравнения в зависимости от возраста

Примечание. (ME; 95% ДИ) в дисперсионном анализе.

Figure 1. Results of the analysis of cytokines in the blood serum of children with community-acquired pneumonia and in the comparison group, depending on age

Note. (ME; 95% CI) in the analysis of variance.

IFN γ , MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF) был значительно выше в группе детей с тяжелой внебольничной пневмонией. Кроме того, отмечается большая вариабельность показателей уровня MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), концентрация которых превышает данные показатели в группе сравнения более чем в 10 раз.

Для изучения влияния факторов (возраст детей и тяжесть внебольничной пневмонии) на изменения цитокинов у детей с ВП в сыворотке крови был проведен двухфакторный дисперсионный анализ. Далее представлены результаты только по тем цитокинам, уровень которых достоверно изменялся в зависимости от тяжести ВП, так как один из факторов – это тяжесть заболевания.

Результаты представлены в таблице 2 и на рисунке 1.

Фактор «Группа» (отражает тяжесть внебольничной пневмонии). Как видно из таблицы 2 и рисунка 1, концентрация цитокинов почти всегда была в целом выше в группе детей с тяжелой ВП. Однако статистически значимые различия между группами детей с ВП разной тяжести (тяжелой и нетяжелой) были наиболее выражены для: IL-6 ($p = 0,007$), GM-CSF ($p = 0,002$) и MCP-1 ($p = 0,005$).

Фактор «Возраст». Как видно из таблицы 1, значимые различия между детьми разного возраста наблюдались только в двух случаях: для IL-6 и GM-CSF. Причем апостериорные сравнения в обоих случаях не позволили понять за счет каких именно возрастных групп данные различия проявились ($p > 0,10$). Это означает, что возрастные особенности в уровнях цитокинов в среднем малы и обнаруживаются только на фоне заболевания, т.е. во взаимодействии факторов.

При изучении взаимодействия факторов «Совокупное влияние факторов» (возраст и тяжесть заболевания) установлено, что входящие в него факторы правильнее рассматривать совместно, поскольку на действие одного из них влияет другой, что выражается в появлении неаддитивных эффектов. В нашем случае значимыми оказались 3 взаимодействия. Статистически значимые изменения наблюдались по 3 цитокинам: IL-6 ($p < 0,031$), IL-28B ($p < 0,001$), GM-CSF ($p < 0,005$).

Для IL-6 оно проявилось в том, что в группе здоровых детей его уровень с возрастом значительно снижался, в то время как в группах детей с ВП он изменялся в зависимости от тяжести пневмонии.

У здоровых детей наблюдалось увеличение уровня IL-28B в сыворотке крови с возрастом, схожий профиль был и для IL-28A в группе срав-

нения, в то время как у детей с ВП данные показатели были достоверно повышены в группе детей с тяжелой пневмонией.

Для GM-CSF взаимодействие заключалось в особой возрастной динамике показателя у детей с нетяжелой ВП. Видно, что для группы сравнения и тяжелой ВП взаимодействия не было: линии возрастных профилей шли параллельно, увеличиваясь. Для детей с нетяжелой ВП такого роста не наблюдалось и даже отмечалось небольшое снижение в старшей возрастной группе.

Обсуждение

Уровни всех исследованных цитокинов (IL-1 β , IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), MCP-1, IL-17AF, GM-CSF) достоверно увеличиваются при внебольничной пневмонии у детей вне зависимости от тяжести процесса, что согласуется с другими исследованиями, поскольку цитокины – это полипептидные молекулы, которые вырабатываются в ответ на воспаление. Воспалительная реакция в данном случае управляется сложной сетью медиаторов и сигнальных путей. Цитокины, в том числе интерлейкины, хемокины, интерфероны регулируют воспаление и отвечают за связь между лейкоцитами, способствуют хемотаксису, а также оказывают противовирусное и антибактериальное действие. Более того, эти молекулы участвуют как во врожденном, так и в адаптивном иммунитете, играя значительную физиологическую роль в онтогенезе лимфоидной ткани, органогенезе, васкулогенезе и репарации тканей [9, 10, 14, 17, 21, 23, 24].

Тяжесть внебольничной пневмонии у детей обусловлена повышением уровня таких цитокинов, как IL-6, IL-17AF, IL-1 β , IFN γ , MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF, что подтверждается литературными данными об увеличении данных цитокинов при различных состояниях, в том числе и при пневмонии [9, 10, 14, 21, 23, 24].

Среди всех цитокинов огромный интерес представляет IL-6, который является наиболее изученным цитокином, уровень которого достоверно повышался в группе детей с тяжелой ВП. Представители семейства IL-6 могут опосредовать острые воспалительные заболевания. Уровни IL-6 очень низки в нормальных условиях, но эти уровни могут повышаться во много тысяч раз при различных воспалительных, септических состояниях, аутоиммунных заболеваниях [25]. Доказана роль IL-6 и при новой коронавирусной инфекции. У тяжелых пациентов с COVID-19, а также умерших вследствие острого респиратор-

ного дистресс-синдрома был выявлен повышенный уровень IL-6 в сыворотке крови [22]. В ряде исследований по изучению COVID-19 было отмечено не только увеличение концентрации в сыворотке крови IL-6, но и таких цитокинов, как MCP-1, IL-1 β , что также было выявлено и в нашем исследовании [16]. Увеличение уровня IL-6 в сыворотке крови положительно коррелирует с тяжестью инфекционного процесса и при внебольничной пневмонии, как у детей, так и у взрослых и является прогностическим маркером неблагоприятного исхода [9, 10, 14, 23].

Повышенный уровень IL-17AF в сыворотке крови, вероятно, может быть связан с тем, что данный интерлейкин участвует в защите от пневмококковой инфекции и препятствует колонизации возбудителя в верхних дыхательных путях, поскольку известно, что пневмококк является наиболее распространенной причиной внебольничной пневмонии у детей. В литературе встречаются единичные исследования по данному цитокину, например у детей до 1 года с тяжелой ВП был отмечен повышенный уровень в сыворотке крови таких цитокинов, как IL-17, который продуцируется Th-17, также IL-1 β и IL-6 [22], а в экспериментальных исследованиях, проведенных на мышах, была доказана роль IL-17 как фактора, способствующего защите дыхательных путей от пневмококка [24, 29].

Интерфероны III типа (IFN λ 2 (IL-28A) и IFN λ 3 (IL-28B)), которые по некоторым литературным данным представляют собой первую линию защиты от микробных инфекций, особенно от вирусов, также были значительно увеличены у детей с тяжелой ВП в сравнении с детьми с не тяжелой пневмонией. Доказано, что они обеспечивают противовирусные свойства клеткам, индуцируя экспрессию сотен генов, известных как интерферон-стимулированные гены (ISG). IFN λ вырабатывается эпителиальными клетками дыхательных путей и имеет важное значение в его защите, обеспечивая противовирусный ответ, а также путем регуляции самого эпителия, контроля и поддержания адаптивных иммунных реакций и целостности эпителиального барьера [28]. В некоторых исследованиях была обнаружена корреляция между IFN λ 2 (IL-28A) и IL-6, что выражалось в увеличении IL-6 и снижении IFN λ 2 у тяжелых пациентов с COVID-19 у взрослых [11]. Примечательно, что более высокие концентрации IFN λ у пациентов с COVID-19 в ряде исследований коррелировали с более низкой вирусной нагрузкой в бронхиальных аспиратах и были связаны с улучшением исхода у тяжелых пациентов [12].

Увеличение уровня GM-CSF у детей с тяжелой внебольничной пневмонией может рассматриваться как маркер тяжести наряду с увеличением уровня IL-6. GM-CSF обычно рассматривается как провоспалительный цитокин и продуцируется многими клетками, включая макрофаги, Т-клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки, причем большая часть продукции происходит в местах воспаления. Уровни GM-CSF являются низкими или неопределяемыми в нормальных условиях, однако любой иммунный триггер может быстро увеличивать его концентрации в сыворотке крови. Бактериальные эндотоксины и провоспалительные цитокины, в частности IL-1 β , IL-6 активно индуцируют выработку GM-CSF. В ряде исследований описана роль GM-CSF как фактора, ответственного за дифференцировку альвеолярных макрофагов, активно участвующих в защите дыхательных путей. Однако по некоторым данным у пациентов с тяжелой пневмонией, вызванной COVID-19, заметное повышение уровня GM-CSF рассматривается как часть «цитокинового шторма», который приводит к прогрессированию острой дыхательной недостаточности. Блокирование передачи сигналов GM-CSF может быть эффективной терапевтической стратегией с целью уменьшения воспаления [8].

Высокая вариабельность и значительное повышение в сыворотке крови такого показателя, как MCP-1, может рассматриваться как маркер тяжести ВП у детей. Известно, что MCP-1 является мощным моноцитарным и макрофагальным, нейтрофильным и Т-клеточным хемоаттрактантом против бактериальной легочной инфекции. В литературе имеются данные взаимосвязи с увеличением уровня MCP-1 и тяжестью внебольничной пневмонии у взрослых, что подтверждается и данными нашего исследования [32].

При анализе уровня цитокинов в сыворотке крови здоровых детей было отмечено, что IL-6 с возрастом снижается, в то время как показатели IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF с возрастом увеличиваются, что подтверждается некоторыми исследованиями, проведенными у здоровых детей, и, вероятно, обусловлено физиологическими изменениями, происходящими в подростковом возрасте, а также степенью активности иммунитета в группах детей различного возраста [17]. Однако проблемами при интерпретации уровня цитокинов в сыворотке крови здоровых детей является отсутствие установленных нормальных диапазонов и ограниченные знания о возрастных различиях.

Изучение уровня цитокинов у детей с ВП в различных возрастных группах и в зависимости от тяжести является перспективным направлением, а использование комбинации различных цитокинов в дальнейшем может быть использовано для создания диагностической модели. Данные иммунологические показатели в сыворотке крови могут отражать степень воспалительного процесса и являться дополнительными иммунологическими маркерами тяжести внебольничной пневмонии у детей.

Выводы

Внебольничная пневмония у детей приводит к повышению уровня всех изучаемых цитокинов по сравнению со здоровыми детьми. Отмечается значительное повышение IL-6, IL-17AF, MCP-1, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF у детей с тяжелой формой внебольничной пневмонии. Уровень таких цитокинов, как IL-6, IFN λ 2 (IL-28A), IFN λ 3 (IL-28B), GM-CSF изменяется в зависимости от возраста пациентов, что, возможно, отражает степень активации иммунной системы в возрастном аспекте.

Список литературы / References

1. Геппе Н.А., Малахов А.Б., Дронов И.А., Хабибуллина Е.А. Внебольничная пневмония у детей: проблемы диагностики, лечения и профилактики // Доктор.Ру, 2015. № 13 (114). С. 20-27. [Geppe N.A., Malakhov A.B., Dronov I.A., Khabibullina E.A. Community-acquired pneumonia in children: problems of diagnosis, treatment and prevention. *Doktor.Ru = Doktor.Ru*, 2015, no. 13 (114), pp. 20-27. (In Russ.)]
2. Зайцева О.В. Формирование иммунитета: актуальные вопросы педиатрии // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2014. № 2 (37). С. 12-22. [Zaitseva O.V. Formation of immunity: topical issues of pediatrics. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Pediatrics*, 2014, no. 2 (37), pp. 12-22. (In Russ.)]
3. Пикуза О.И., Самороднова Е.А. Современные особенности внебольничных пневмоний у детей раннего возраста // Практическая медицина, 2013. № 6 (75). С. 35-41. [Pikuza O.I., Samorodnova E.A. Modern features of community-acquired pneumonia in young children. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2013, no. 6 (75), pp. 35-41. (In Russ.)]
4. Пневмония (внебольничная). Оригинал-макет, 2022. 82 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/714_1. [Pneumonia (community-acquired). Original layout, 2022. 82 p. [Electronic resource]. Access mode: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/714_1.]
5. Узунова А.Н. Пневмонии в детском возрасте. Челябинск: Челяб. гос. мед. акад., 2002. 215 с. [Uzunova A.N. Pneumonia in childhood]. Chelyabinsk: Chelyabinsk State Medical Academy, 2002. 215 p.
6. Bacci M.R., Leme R.C., Zing N.P., Murad N., Adami F., Hinnig P.F., Feder D., Chagas A.C., Fonseca F.L. IL-6 and TNF- α serum levels are associated with early death in community-acquired pneumonia patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2015, Vol. 48, no. 5, pp. 427-432.
7. Banerjee R. CON: Procalcitonin does not have clinical utility in children with community-acquired pneumonia. *JAC Antimicrob. Resist.*, 2021, Vol. 3, no. 4, dlab152. doi: 10.1093/jacamr/dlab152.
8. Bonaventura A., Vecchié A., Wang T.S., Lee E., Cremer P.C., Carey B., Rajendram P., Hudock K.M., Korbee L., van Tassel B.W., Dagna L., Abbate A. Targeting GM-CSF in COVID-19 Pneumonia: Rationale and Strategies. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 1625. doi: 10.3389/fimmu.2020.01625.
9. de Brito R.C., Lucena-Silva N., Torres L.C., Luna C.F., Correia J.B., da Silva G.A. The balance between the serum levels of IL-6 and IL-10 cytokines discriminates mild and severe acute pneumonia. *BMC Pulm. Med.*, 2016, Vol. 16, no. 1, 170. doi: 10.1186/s12890-016-0324-z.
10. Fernandes C.D., Arriaga M.B., Costa M.C.M., Costa M.C.M., Costa M.H.M., Vinhaes C.L., Silveira-Mattos P.S., Fukutani K.F., Andrade B.B. Host inflammatory biomarkers of disease severity in pediatric community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infect. Dis.*, 2019, Vol. 6, no. 12, ofz520. doi: 10.1093/ofid/ofz520.
11. Fukuda Y., Homma T., Inoue H., Onitsuka C., Ikeda H., Goto Y., Sato Y., Kimura T., Hirai K., Ohta S., Yamamoto M., Kusumoto S., Suzuki S., Tanaka A., Sagara H. Downregulation of type III interferons in patients with severe COVID-19. *J. Med. Virol.*, 2021, Vol. 93, no. 7, pp. 4559-4563.
12. Galani I.E., Rovina N., Lampropoulou V., Triantafyllia V., Manioudaki M., Pavlos E., Koukaki E., Fragkou P.C., Panou V., Rapti V., Koltsida O., Mentis A., Koulouris N., Tsiodras S., Koutsoukou A., Andreacos E. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison. *Nat. Immunol.*, 2021, Vol. 22, no. 1, pp. 32-40.
13. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, Vol. 4, iss. 1, 9 p. Available at: https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

14. Haugen J., Chandyo R.K., Brokstad K.A., Mathisen M., Ulak M., Basnet S., Valentiner-Branth P., Strand T.A. Cytokine concentrations in plasma from children with severe and non-severe community acquired pneumonia. *PLoS One*, 2015, Vol. 10, no. 9, e0138978. doi: 10.1371/journal.pone.0138978.
15. Jin H.L., Zhan L., Mei S.F., Shao Z.Y. Serum cytokines and FeNO in school-aged children with mycoplasma pneumoniae pneumonia. *Med. Sci. Monit.*, 2020, Vol. 26, e923449. doi: 10.12659/MSM.923449.
16. Khaedir Y., Kartika R. Perspectives on Targeting IL-6 as a Potential Therapeutic Strategy for COVID-19. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2021, Vol. 41, no. 2, pp. 37-43.
17. Kleiner G., Marcuzzi A., Zanin V., Monasta L., Zauli G. Cytokine levels in the serum of healthy subjects. *Mediators Inflamm.*, 2013, Vol. 2013, 434010. doi: 10.1155/2013/434010.
18. le Roux D.M., Zar H.J. Community-acquired pneumonia in children – a changing spectrum of disease. *Pediatr. Radiol.*, 2017, Vol. 47, no. 11, pp. 1392-1398.
19. Lee J.E., Kim J.W., Han B.G., Shin S.Y. Impact of whole-blood processing conditions on plasma and serum concentrations of cytokines. *Biopreserv. Biobank.*, 2016, Vol. 14, no. 1, pp. 51-55.
20. Liu C., Chu D., Kalantar-Zadeh K., George J., Young H.A., Liu G. Cytokines: from clinical significance to quantification. *Adv. Sci. (Weinh)*, 2021, Vol. 8, no. 15, e2004433. doi: 10.1002/advs.202004433.
21. Liu M., Lu B., Fan H., Guo X., Du S., Yang D., Xu Y., Li Y., Che D., Liu Y., Gu X., Ding T., Wang P., Luo H.B., Lu G. Heightened local Th17 cell inflammation is associated with severe community-acquired pneumonia in children under the age of 1 year. *Mediators Inflamm.*, 2021, Vol. 2021, 9955168. doi: 10.1155/2021/9955168.
22. Potere N., Batticciotto A., Vecchié A., Porreca E., Cappelli A., Abbate A., Dentali F., Bonaventura A. The role of IL-6 and IL-6 blockade in COVID-19. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 17, no. 6, pp. 601-618.
23. Principi N., Esposito S. Biomarkers in pediatric community-acquired pneumonia. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 18, no. 2, 447. doi: 10.3390/ijms18020447.
24. Ritchie N.D., Ritchie R., Bayes H.K., Mitchell T.J., Evans T.J. IL-17 can be protective or deleterious in murine pneumococcal pneumonia. *PLoS Pathog.*, 2018, Vol. 14, no. 5, e1007099. doi: 10.1371/journal.ppat.1007099.
25. Rose-John S. Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2018, Vol. 10, no. 2, a028415. doi: 10.1101/cshperspect.a028415.
26. Saghaifan-Hedengren S., Mathew J.L., Hagel E., Singhi S., Ray P., Ygberg S., Nilsson A. Assessment of cytokine and chemokine signatures as potential biomarkers of childhood community-acquired pneumonia severity: a nested cohort study in india. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2017, Vol. 36, no. 1, pp. 102-108.
27. Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry, the principles and practice of statistics in biological research, 3rd ed.; W.H. Freeman and Co.: New York, NY, USA, 1997.
28. Stanifer M.L., Guo C., Doldan P., Boulant S. Importance of Type I and III interferons at respiratory and intestinal barrier surfaces. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 608645. doi: 10.3389/fimmu.2020.608645.
29. Wilson R., Cohen J.M., Jose R.J., de Vogel C., Baxendale H., Brown J.S. Protection against Streptococcus pneumoniae lung infection after nasopharyngeal colonization requires both humoral and cellular immune responses. *Mucosal Immunol.*, 2015, Vol. 8, no. 3, pp. 627-639.
30. World Health Organization. Revised WHO Classification and Treatment of Childhood Pneumonia at Health Facilities: Evidence Summaries. Geneva: World Health Organization; 2014. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK264162/>.
31. Ye L., Schnepf D., Staeheli P. Interferon- λ orchestrates innate and adaptive mucosal immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 2019, Vol. 19, no. 10, pp. 614-625.
32. Yong K.K., Chang J.H., Chien M.H., Tsao S.M., Yu M.C., Bai K.J., Tsao T.C., Yang S.F. Plasma Monocyte chemoattractant protein-1 level as a predictor of the severity of community-Acquired Pneumonia. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, no. 2, 179. doi: 10.3390/ijms17020179.
33. Yoshioka K. KyPlot – A User-oriented Tool for Statistical Data Analysis and Visualization. *CompStat*, 2002, Vol. 17, iss. 3, 425-437.

Авторы:

Изюрова Н.В. — ассистент кафедры пропедевтики детских болезней и педиатрии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Савочкина А.Ю. — д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Authors:

Iziurova N.V., Assistant Professor, Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics, South Ural Medical State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Savochkina A.Yu., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural Medical State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Узунова А.Н. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней и педиатрии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Uzunova A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics, South Ural Medical State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Нохрин Д.Ю. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Nokhrin D. Yu., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 24.06.2022
Принята к печати 29.07.2022

Received 24.06.2022
Accepted 29.07.2022