

DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.4\(51\).2021.6](https://doi.org/10.34287/MMT.4(51).2021.6)

Л. С. Овчаренко, О. В. Тимошина, А. О. Вертегел, Т. Г. Андрієнко, І. В. Самохін, О. В. Кряжев, О. М. Чакмазова

Державний заклад «Запорізька медична академія післядипломної освіти Міністерства охорони здоров'я України»
Запоріжжя, Україна

L. S. Ovcharenko, O. V. Tymoshyna, A. O. Vertehel, T. G. Andrienko, I. V. Samokhin, O. V. Kryazhev, O. M. Chakmazova

State Institution «Zaporizhzhia Medical Academy of post-graduate education Ministry of Health of Ukraine»
Zaporizhzhia, Ukraine

ПОГЛИНАЛЬНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФАГОЦИТОЗУ У ДІТЕЙ, ЗАЛЕЖНО ВІД ЧАСТОТИ ЗАХВОРЮВАНОСТІ НА ГОСТРІ РЕСПІРАТОРНІ ІНФЕКЦІЇ

The absorptive and metabolic features of phagocytosis in children,
depending on the frequency of acute respiratory infections

Реферат

Мета дослідження. Удосконалення діагностики порушень вродженого імунітету у дітей дошкільного віку з повторними інфекційними захворюваннями респіраторного тракту на підставі встановлення нових даних щодо параметрів фагоцитозу шляхом дослідження його поглинальних та прооксидантних характеристик.

Матеріали та методи. Під спостереженням знаходилося 60 дітей віком від 2 до 5 років, з яких було сформовано 2 групи: 1) діти, які хворіють на гострі інфекційні захворювання респіраторного тракту більш ніж 6 разів на рік ($n = 30$); 2) діти, які хворіють на гострі інфекційні захворювання респіраторного тракту 6 та менше разів на рік ($n = 30$).

Результати. Серед дітей, які хворіють на ГРЗ більше ніж 6 разів на рік, збільшується частота реєстрації низьких показників фагоцитарного числа (на 60,0%, $p < 0,05$), фагоцитарного індексу (на 56,0%, $p < 0,05$), індексу завершеності фагоцитозу (на 70,0%, $p < 0,05$), стимульованого стафілококом НСТ-тесту (на 50,0%, $p < 0,05$) та високих показників спонтанного НСТ-тесту (на 43,3%, $p < 0,05$), високих показників гідроперексидів ліпідів (на 80,0%, $p < 0,05$), дієнових кон'югат (на 80,0%, $p < 0,05$), МДА (на 76,7%, $p < 0,05$), дієнових кетонів (на 76,7%, $p < 0,05$), шифових основ (на 76,7%, $p < 0,05$).

Abstract

Purpose of the study. To improve of innate immune disorders diagnosis in preschool children with respiratory tract recurrent infectious diseases on the basis of new data of phagocytosis parameters by studying its absorption and prooxidant characteristics.

Materials and methods. Under observation were 60 children aged 2 to 5 years. Two groups were formed: 1). children with respiratory tract acute infectious more than 6 times in year ($n = 30$); 2). children with respiratory tract acute infectious 6 or less times in year ($n = 30$).

Results. Among children in 1 group, statistically significantly increased the registration quantity of low phagocytic counts (by 60,0%, $p < 0,05$), phagocytic index (by 56,0%, $p < 0,05$), index of phagocytosis completeness (70,0%, $p < 0,05$), neutrophil phagocytic activity stimulated by staphylococcus (50,0%, $p < 0,05$) and high rates of spontaneous neutrophil phagocytic activity (43,3%, $p < 0,05$), high serum levels of lipid hydroperoxides (by 80,0%, $p < 0,05$), diene conjugates (by 80,0%, $p < 0,05$), malonic dialdehyde (76,7%, $p < 0,05$), diene ketones (76,7%, $p < 0,05$), Schiff bases (76,7%, $p < 0,05$).

Conclusion. In children 2–5 years with respiratory tract acute infectious more than 6 times in year the phagocytic dysfunction and increased lipid peroxidation were established. It is

Висновок. У дітей 2–5 років, які хворіли на ГРЗ більше 6 разів на рік, має місце фагоцитарна дисфункція та посилення системних процесів ПОЛ, що характеризує недостатність та повільність ранньої імунної відповіді.

Ключові слова: діти, респіраторні інфекції, імунітет, фагоцитоз, пероксидація.

characterizing the failure and slowness of the early immune response.

Keywords: children, respiratory infections, immunity, phagocytosis, peroxidation.

Функціонування імунного захисту дитини передбачає часту зустріч з новими для неї мікроорганізмами. Тому важливе значення для локалізації та елімінації незнайомих патогенів отримує система вродженого імунітету, зокрема, фагоцитоз, який повинен компенсувати тимчасову незрілість адаптивних реакцій при цьому не тільки його поглинальних характеристик, а й метаболічних, що потребує посилення прооксидантного потенціалу, який реалізується у вигляді «оксидантного вибуху» [1, 2, 3]. Але тимчасова фізіологічна нездатність імунної системи дитини залучати механізми імунологічної пам'яті нерідко призводить до частих гострих респіраторних захворювань (ГРЗ) з тяжким перебігом і формуванням ускладнень [4].

При зустрічі з патогеном фагоцитоз здійснюється за допомогою ліберації з фаголізосом цілого набору ферментів і активних форм кисню, що відносять до медіаторів запалення. Ці речовини разом безпосередньо ушкоджують клітини та стимулюють й підтримують перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран при запаленні, з подальшим утворенням цитотоксичних перекису водню, гіпохлорної кислоти тощо [5]. У фізіологічних умовах роботи фагоцитарної системи потрібний чіткий баланс поглинальних та прооксидантних процесів, адже надмірне посилення оксидації сприяє не тільки боротьбі з інфекційними агентами, а й пошкодженню тканин шоківих органів, що в кінцевому результаті призведе до їхніх структурних та функціональних порушень. Зокрема, руйнування клітин мікрооточення в результаті «оксидантного вибуху» супроводжується, насамперед, деградацією мембран з патологічним окисленням їхніх ліпідних компонентів і формуванням проміжних та кінцевих продуктів, дослідження яких дозволяє встановити тривалість та глибину патологічного дисбалансу ПОЛ. Не виключено, що кожний випадок частого повторного та/або тривалого запалення перебігає з активацією ПОЛ, що є маркером напруги захисних можливостей організму [6].

У той же час послаблення дії прооксидантних сполук, які активно продукуються одночасно з процесами мікробного поглинання при фагоцитозі, здатне призводити до зниження ефективності функціонування цієї ланки імунітету, що матиме клінічні прояви вторинної імунної недостатності – часта повторна захворюваність

на інфекційну патологію, тяжкий та/або тривалий перебіг хвороби, формування ускладнень тощо [7, 8].

Саме тому, дослідження стану фагоцитозу та прооксидантних процесів у дітей з частими повторними інфекційними захворюваннями респіраторного тракту допоможе більшому розумінню процесів вікового становлення протиінфекційного захисту у дітей та підвищити інформативність своєчасного виявлення його порушень.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Удосконалення діагностики порушень вродженого імунітету у дітей дошкільного віку з повторними інфекційними захворюваннями респіраторного тракту на підставі встановлення нових даних щодо параметрів фагоцитозу шляхом дослідження його поглинальних та прооксидантних характеристик.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під спостереженням знаходилося 60 дітей віком від 2 до 5 років, з яких було сформовано 2 групи: 1) діти, які хворіють на гострі інфекційні захворювання респіраторного тракту більш ніж 6 разів на рік ($n = 30$); 2) діти, які хворіють на гострі інфекційні захворювання респіраторного тракту 6 та менше разів на рік ($n = 30$).

Визначення «часті повторні респіраторні інфекції» у дітей базувалося на таких міжнародних критеріях: 1) більш ніж 6 епізодів інфекцій дихальних шляхів протягом 1 року; 2) більше 1 епізоду інфекції верхніх дихальних шляхів на місяць у період з вересня по квітень; 3) понад 3 епізоди інфекції нижніх дихальних шляхів протягом одного року [9].

Діти в групах спостереження були зіставлені за віком, статтю, тривалістю та тяжкістю хвороби, супутньої патології. Клінічний метод складався з оцінки анамнезу, фенотипової характеристики дитини, загальноклінічних методів обстеження.

Кров для дослідження стану імунної системи брали з кубітальної вени вранці натще. Обстеження проводилось в міській лабораторії клінічної імунології КНП «Міська дитяча лікарня № 1» Запорізької міської ради (свідоцтво про атестацію № 004313 від 21.08.2015 р.). Вивчення показників фагоцитозу здійснювалося методом відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест)

спонтанного та стимульованого (антигеном *Staphylococcus*), розрахунком фагоцитарного числа, індексу завершеності фагоцитозу. Референтні показники визначалися за сертифікованими нормативами лабораторії, де проводилися дослідження, та викладені у локальних протоколах з імунодіагностики у дітей КНП «Міська дитяча лікарня № 1» Запорізької міської ради. Гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати (ДК) і дієнові кетони (ДКет) визначали за методом В. Б. Гаврилова (1983, 1988). Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) визначали за методом Л. І. Андреева зі співавт. (1985).

Для статистичної обробки отриманих результатів використовувався кутовий критерій

Фішера ϕ (для зіставлення двох вибірок за частотою виявлення відхилень показників фагоцитозу).

Дослідження було проведено у відповідності з етичними принципами Медичного дослідження, проведеного на людях, які були прийняті Гельсінкської Декларацією, і Якісною Клінічною Практикою (GCP).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для оцінки частоти виникнення відхилень параметрів фагоцитозу в сироватці крові було встановлено кількість дітей, у яких вони реєструвалися. Дані представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Кількість дітей з показниками параметрів фагоцитозу

Діапазон величини показника	Група 1, n = 30	Група 2, n = 30
Фагоцитарне число		
Вище норми ($\geq 11\%$)	0	1 (3,3%)
У межах норми (5–10%)	9 (30,0%)	26 (86,7%)
Нижче норми ($\leq 4\%$)	21 (70,0%)*	3 (10,0%)
Фагоцитарний індекс		
Вище норми ($\geq 81\%$)	0	0
У межах норми (60–80%)	11 (36,3%)	27 (90,0%)
Нижче норми ($\leq 59\%$)	19 (66,7%)*	3 (10,7%)
Індекс завершеності фагоцитозу		
У межах норми (> 1)	4 (13,3%)	26 (86,7%)
Нижче норми (< 1)	26 (83,3%)*	4 (13,3%)
НСТ-тест (спонтанний)		
Вище норми ($\geq 27\%$)	28 (93,3%)*	15 (50,0%)
У межах норми (12–26%)	2 (6,7%)	15 (50,0%)
Нижче норми ($\leq 11\%$)	0	0
НСТ-тест (стимульований стафілококом)		
Вище норми ($\geq 51\%$)	6 (20,0%)	4 (13,3%)
У межах норми (40–50%)	7 (23,3%)	24 (80,0%)
Нижче норми ($\leq 39\%$)	17 (56,7%)*	2 (6,7%)

Примітка: * достовірність відмінностей від показників групи 2 ($p < 0,05$)

Представлені в таблиці дані, щодо частоти виникнення відхилень параметрів фагоцитозу демонструють, що серед дітей, які хворіють на ГРЗ більше ніж 6 разів на рік статистично значимо збільшується частота реєстрації низьких показників фагоцитарного числа (на 60,0%, $p < 0,05$), фагоцитарного індексу (на 56,0%, $p < 0,05$), індексу завершеності фагоцитозу (на 70,0%, $p < 0,05$), стимульованого стафілококом НСТ-тесту (на 50,0%, $p < 0,05$) та високих показників спонтанного НСТ-тесту (на 43,3%, $p < 0,05$). Отримані результати продемонстрували існування високої ймовірності того, що збільшення

частоти захворюваності на ГРЗ асоційоване з наявністю відхилень показників фагоцитозу від референтних значень.

Для оцінки частоти виникнення відхилень параметрів ПОЛ в сироватці крові було встановлено кількість дітей, у яких вони реєструвалися. Дані представлені в таблиці 2.

Представлені в таблиці дані, щодо частоти виникнення відхилень параметрів ПОЛ демонструють, що серед дітей, які хворіють на ГРЗ більше ніж 6 разів на рік статистично значимо збільшується частота реєстрації високих показників гідроперекисів ліпідів (на 80,0%, $p < 0,05$),

дієнових кон'югат (на 80,0%, $p < 0,05$), МДА (на 76,7%, $p < 0,05$), дієнових кетонів (на 76,7%, $p < 0,05$), шифових основ (на 76,7%, $p < 0,05$). Отримані результати продемонстрували існу-

вання високої ймовірності того, що збільшення частоти захворюваності на ГРЗ асоційоване з наявністю збільшення показників ПОЛ від референтних значень.

Таблиця 2

Кількість дітей з відхиленнями параметрів ПОЛ

Діапазон величини показника	Група 1, n = 30	Група 2, n = 30
Гідроперекиси ліпідів		
Вище норми ($\geq 3,21 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{л}$)	28 (93,3%)*	4 (13,3%)
У межах норми ($3,03 \pm 0,17 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{л}$)	2 (6,7%)	26 (86,7%)
Нижче норми ($\leq 3,02 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{л}$)	0	0
Дієнові кон'югати		
Вище норми ($\geq 0,841 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{мг}$)	27 (90,0%)*	3 (10,0%)
У межах норми ($0,801 \pm 0,039 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{мг}$)	3 (10,0%)	27 (90,0%)
Нижче норми ($\leq 0,762 \Delta_{\Delta_{233}}/\text{мг}$)	0	0
МДА		
Вище норми ($\geq 3,66 \text{ мкмоль/л}$)	26 (86,7%)*	3 (10,0%)
У межах норми ($3,38 \pm 0,27 \text{ мкмоль/л}$)	4 (13,3%)	26 (86,7%)
Нижче норми ($< 3,11 \text{ мкмоль/л}$)	0	1 (3,3%)
Дієнові кетони		
Вище норми ($\geq 4,12 \Delta_{\Delta_{273}}/\text{л}$)	28 (93,3%)*	5 (16,7%)
У межах норми ($3,76 \pm 0,35 \Delta_{\Delta_{273}}/\text{л}$)	2 (6,7%)	25 (83,3%)
Нижче норми ($\leq 3,40 \Delta_{\Delta_{273}}/\text{л}$)	0	0
Шифові основи		
Вище норми ($\geq 17,11 \text{ у.о.}$)	26 (86,7%)*	3 (10,0%)
У межах норми ($16,00 \pm 1,10 \text{ у.о.}$)	4 (13,3%)	26 (86,7%)
Нижче норми ($\leq 14,90 \text{ у.о.}$)	0	1 (3,3%)

Примітка: * достовірність відмінностей від показників групи 2 ($p < 0,05$)

ОБГОВОРЕННЯ

Діти дошкільного віку вперше зустрічаються з переважною більшістю мікроорганізмів. Це потребує чіткої та злагодженої роботи усіх ланок вродженого імунного захисту, особливо, фагоцитозу, який здатний не тільки локалізувати та знешкодити патоген, а й видалити його з організму, використовуючи для цього поглинальні та біохімічні (цитолітичні) механізми [10]. Саме тому, дослідження та порівняння функції фагоцитуючих клітин у дітей, залежно від частоти захворюваності на респіраторні інфекції, було важливим та актуальним.

Було виявлено, що у дітей віком від 2 до 5 років, які хворіють на ГРЗ більше 6 разів на рік, мало місце такі особливості вродженого імунного захисту, як зниження поглинальних характеристик фагоцитозу (фагоцитарного числа, фагоцитарного індексу, індексу завершеності фагоцитозу) та стимульованої метаболічної активності, а також підвищення спонтанної метаболічної активності (НСТ-тест).

Недостатність поглинальної здатності фагоцитуючих клітин сприяла більш легкій фіксації патогенних мікроорганізмів на слизових оболонках дитини, з подальшим розвитком інфекційного запального процесу, що було однією з причин формування рекурентного перебігу ГРЗ у дітей 1-ї групи [11]. При цьому, реєструвалося підвищення спонтанної метаболічної активності мікрофагів (НСТ-тест), як прояв патологічної компенсації недостатності поглинальних характеристик фагоцитозу. Такий ефект був здатний призводити до локального хімічного пошкодження тканин міста фіксації збудника та клітин мікрооточення, що могло додатково знижувати захисний потенціал уражених слизових оболонок [12]. Треба зазначити, що загалом такі біохімічні процеси прооксидантної спрямованості є необхідною складовою процесів знешкодження бактерій, активації лімфоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів, фагоцитарної реакції макрофагів [13].

У дітей 1-ї групи дані процеси вийшли за межі фізіологічних, що проявилось зростанням вмісту

продуктів ПОЛ у крові пацієнтів. Враховуючи те, що активація ПОЛ є однією з найбільш ранніх реакцій на антигенну стимуляцію, то одночасне збільшення сироваткового вмісту первинних, вторинних і кінцевих метаболітів пероксидації свідчить про особливий характер запального процесу у досліджуваній групі хворих – активний гострий з тенденцією до тривалого перебігу без фізіологічного затухання. Це, можливо, відбувалося внаслідок постійного патологічного подразнення клітинних ферментних систем мікробними антигенами.

Негативним був факт того, що у разі стимуляції нейтрофільних гранулоцитів стафілококом, показники НСТ-тесту не зростали. Не можна виключити те, що вони були виснажені тривалою підтримкою високого спонтанного рівня, що могло стати передумовою для більш легкої бактеріальної колонізації, тобто – формуванню бактеріальних ускладнень та більш тривалого перебігу ГРЗ [14].

Такі процеси могли утворювати токсичне навантаження на клітинні інструменти вродженого імунітету з порушеннями його захисних характеристик, а згодом – підвищеної захворюваності з формуванням порочного кола. Данні

метаболічні особливості функціонування проти-мікробного захисту потрібно враховувати при формуванні програми профілактичних та реабілітаційних заходів щодо зниження захворюваності дітей дошкільного віку.

ВИСНОВКИ

У дітей 2–5 років, які хворіли на ГРЗ більше 6 разів на рік, має місце фагоцитарна дисфункція та посилення системних процесів ПОЛ. Це проявляється у зниженні поглинальних характеристик фагоцитозу та стимульованої метаболічної активності на тлі підвищення спонтанної метаболічної активності, збільшення сироваткового вмісту первинних, вторинних і кінцевих метаболітів пероксидації ліпідів як прояв особливого характеру запального процесу у досліджуваній групі хворих – активний гострий з тенденцією до тривалого перебігу без фізіологічного затухання. Такі особливості характеризують недостатність та повільність ранньої імунної відповіді, яка навіть зі збереженням певних компенсаторних можливостей, не здатна повноцінно локалізувати інфекційний процес, що проявляється у дітей в вигляді частой захворюваності на ГРЗ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Heinonen S., Diaz A., Rodriguez-Fernandez R. et al. Infant Immune Response to Respiratory Viral Infections. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2019; 39 (3): 361–376.
2. O'Connor A. The Adventures of Captain Immunity. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017; 2 (9): 633.
3. Emam M., Tabatabaei S., Sargolzaei M., Mallard B. Response to Oxidative Burst-Induced Hypoxia Is Associated With Macrophage Inflammatory Profiles as Revealed by Cellular Genome-Wide Association. *Front. Immunol.* 2021; 12: A688503.
4. Pinti M., Appay V., Campisi J. et al. Aging of the immune system: focus on inflammation and vaccination. *European journal of immunology*. 2016; 46 (10): 2286–2301.
5. Cantin A.M., Ouellet C., Cloutier A., McDonald P.P. Airway Mucins Inhibit Oxidative and Non-Oxidative Bacterial Killing by Human Neutrophils. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: A554353.
6. Talukdar P.M., Abdul F., Maes M., Binu V.S., Venkatasubramanian G., Kutty B.M., Debnath M. Maternal Immune Activation Causes Schizophrenia-like Behaviors in the Offspring through Activation of Immune-Inflammatory, Oxidative and Apoptotic Pathways, and Lowered Antioxidant Defenses and Neuroprotection. *Mol. Neurobiol.* 2020; 57: 4345–4361.
7. Xiao J., Khan M.Z., Ma Y. et al. The Antioxidant Properties of Selenium and Vitamin E; Their Role in Periparturient Dairy Cattle Health Regulation. *Antioxidants*. 2021; 10 (10): 1555.
8. Baldissera M.D., Souza C.F., Parmeggiani B. et al. The disturbance of antioxidant/oxidant balance in fish experimentally infected by *Aeromonas caviae*: relationship with disease pathophysiology. *Microbial pathogenesis*. 2018; 122: 53–57.
9. Cuppari C., Colavita L., Miraglia Del Giudice M. et al. Recurrent respiratory infections between immunity and atopy. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2020; 31: P. 19–21.
10. Lim J.J., Grinstein S., Roth Z. Diversity and versatility of phagocytosis: roles in innate immunity, tissue remodeling, and homeostasis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017; 7: 191.
11. Yousefzadegan S., Tavakol M., Abolhassani H. et al. Systematic investigation for underlying causes of recurrent infections in children: surveillance of primary immunodeficiency. *European annals of allergy and clinical immunology*. 2017; 50 (2): 72–80.
12. Hosakote Y.M., Rayavara K. Respiratory Syncytial Virus-Induced Oxidative Stress in Lung Pathogenesis. In: Chakraborti S., Parinandi N., Ghosh R., Ganguly N., Chakraborti T. (eds) *Oxidative Stress in Lung Diseases*. 2020. Springer, Singapore.

13. Soltani M., Zarei M.H., Salimi A., Pourahmad J. Mitochondrial protective and antioxidant agents protect toxicity induced by depleted uranium in isolated human lymphocytes. *Journal of environmental radioactivity*. 2019; 203: 112–116.
14. Bakaletz L.O. Viral–bacterial co-infections in the respiratory tract. *Current opinion in microbiology*. 2017; 35: 30–35.

Стаття надійшла до редакції 01.11.2021