

УДК: 618.33:616.24-002

О.С. Яблонь, І.І. Ремінна

Роль TLR2 у реалізації вродженої та набутої пневмонії у новонароджених дітей

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2016.8(80):26-29; doi 10.15574/SP.2016.80.26

Мета: дослідити роль Toll2-подібних рецепторів у процесі реалізації вродженої та набутої пневмонії у новонароджених дітей.

Пацієнти та методи. Проведено клініко-параклінічне обстеження 69 доношених новонароджених, хворих на пневмонію. Застосовано клінічні та параклінічні методи обстеження: С-реактивний білок (СРБ), вміст Toll Like Receptor 2 (TLR2) у сироватці крові, рентгенологічне дослідження органів грудної клітки.

Результати. Встановлено, що вміст TLR2 у дітей, які захворіли на пневмонію у перші 48 годин життя, був значно нижчим, ніж у дітей, клініка у яких з'явилася після 48 годин.

Не виявлено достовірної різниці між показниками TLR2 у дітей, які отримували інвазивну дихальну підтримку, та тими, що її не потребували. Встановлено залежність показника TLR2 від рівня СРБ — чим вищий цей показник, тим нижчий рівень TLR2 (у дітей обох досліджуваних груп). Оцінка вмісту TLR2 залежно від локалізації запального процесу в легенях показала, що із поширенням інфільтративних змін у легенях у дітей II групи спостерігалось збільшення TLR2, а у дітей I групи — зменшення.

Висновки. Вміст TLR2 у сироватці крові новонароджених, які мали в неонатальному періоді клінічні симптоми дихальної недостатності та інтоксикації, достовірно перевищував показники групи контролю. Показник TLR2 у дітей із вродженою пневмонією був достовірно нижчим, ніж у дітей з набутою пневмонією. Встановлено зворотню залежність вмісту TLR2 від важкості запального процесу в легенях, зокрема від рентгенологічної картини поширеності інфільтративних змін та величини показника СРБ у сироватці крові.

Ключові слова: неонатальні пневмонії, Toll2-подібні рецептори, С-реактивний білок, рентгенологічне дослідження органів грудної клітки.

Вступ

Важливу роль у первинному захисті організму людини від патогенів відіграє природжена імунна система. На думку багатьох учених, стійкий сигнал природженої імунної відповіді, який є стародавньою формою імунної системи, забезпечує безпосередній захисний механізм проти мікроорганізмів та виконує роль пам'яті, впливаючи, таким чином, на дозрівання адаптивної імунної системи (В.А. Бехало, 2009).

Усвідомлення важливої ролі природженого імунітету прийшло разом з ідентифікацією патерн-розпізнавальних рецепторів (PPR, PRR, pattern recognition receptors), відомих у сучасній науковій літературі як Toll-подібні рецептори (TLR). Вони належать до групи сигнальних патерн-розпізнавальних рецепторів і розглядаються дослідниками в ролі ключових рецепторів природженого імунітету, оскільки TLRs забезпечують молекулярну ідентифікацію патогену із подальшим включенням важливих компонентів спадкового імунітету та відіграють вирішальну роль у ранньому захисті організму від чужорідних структур (Д.В. Осипчук, 2014; N.P. Corbett, 2010). Відповідно до сучасних уявлень (Z. Hua, 2013), TLR є центральним елементом багаторівневої системи розпізнавання патоген-асоційованих молекулярних структур, збудження яких при інфікуванні організму призводить до активації декількох груп генів, що беруть участь у регуляції запального процесу, вроджених механізмів захисту від інфекційних агентів.

Активізація патерн-розпізнавальних рецепторів та сигнальні шляхи, які ними запускаються, є стародавньою еволюційно-консервативною системою, що здатна не тільки розпізнавати патогени, але й ініціювати комплекс захисних механізмів організму. У результаті специфічного контакту з лігандом запускається синтез цитокінів за рахунок активації транскрипції генів у мРНК, які відповідальні за їх продукцію (Z. Shi, 2011).

Філогенетичні дослідження показали, що родина TLR людей організована п'ятьма субродинами: TLR2 (TLR1, TLR2, TLR6 і TLR10), TLR3, TLR4, TLR5, TLR7 (TLR7, TLR8 і TLR9). Субродина TLR2 (TLR1, TLR2, TLR6 і TLR10) бере участь у розпізнаванні ліпопептидів; TLR3 — у рекогніції дволанцюгових РНК; TLR4 — у взаємодії з LPS; TLR5 — у розпізнаванні флажеліну, TLR7 (TLR7, TLR8 і TLR9) — у рекогніції внутрішньоклітинних нуклеїнових кислот (Н.М. Бережная, 2011).

Залежно від місця розташування в просторовому континумі клітини родини TLR умовно розподілені на дві підгрупи, що поєднують TLR, які функціонально асоційовані з цитоплазматичною мембраною клітини (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10), і TLR, які локалізуються і проявляють свою активність на мембранах інтрацелюлярних везикул, таких як ендосоми, лізосоми, ендоплазматичний ретикулум (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9). Різні мембраноасоційовані TLR локалізуються в певних регіонах цитоплазматичної мембрани епітеліальних клітин: TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 зосереджені на апікальній, а TLR5 дислокований на її базолатеральній поверхні (А.Е. Абатуров, 2012).

Рецептори TLR експресуються імунними і неімунними клітинами, у тому числі слизовими оболонками респіраторного тракту. Найбільш виражена активність експресії TLR притаманна дендритним клітинам (DC), макрофагам і В-лімфоцитам.

При виникненні інфекційно-запального захворювання відбувається зміна рівня експресії TLR на Т-лімфоцитах. Характерною особливістю експресії TLR загальної популяції В-лімфоцитів людини є високий рівень експресії TLR1, TLR6, TLR7, TLR9, TLR10 і низький рівень експресії TLR2, TLR4 (S. Borrello, 2011).

Рецептор TLR2 бере участь у розпізнаванні широкого діапазону PAMP не тільки бактерій, але й різних інших патогенних мікроорганізмів — вірусів, грибів і паразитів.

TLR2 взаємодіє з продуктами деградації мембранної стінки переважно грамположитивних бактерій.

Унікальність субродини TLR2 полягає у здатності її представників до кооперативного функціонування в процесі рекогніції PAMP під час фагоцитозу, яке виражається в організації гетеродимерів TLR2-TLR1, TLR2-TLR6 або TLR2-TLR10 на поверхні цитоплазматичної мембрани. Взаємодія між мономерами різних TLR розширює їх функціональний діапазон рекогніції. У гетеродимерному стані вони набувають можливості взаємодіяти з PAMP, які не можуть бути розпізнані гомодимерами цієї рецепторної субродини (L. Oliveira-Nascimento, 2012).

Мета роботи: дослідити роль Toll2-подібних рецепторів у процесі реалізації вродженої та набутої пневмонії у новонароджених дітей.

Матеріал і методи дослідження

Проведено комплексне клініко-параклінічне обстеження 69 доношених новонароджених, хворих на пневмонію. Контрольну групу склали 25 доношених дітей, які не мали інфекційно-запальних захворювань. Обстежені діти перебували у неонатальному центрі Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні, відділення анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених, відділення патології новонароджених. Діагноз пневмонії у обстежених дітей встановлювали відповідно до МКХ-10 (<http://www.who.int/classifications/apps/icd10online/>) та чинного наказу МОЗ України №18 від 13.01.2005 року. Критеріями включення були клінічні симптоми дихальної недостатності та інтоксикації, гестаційний вік 38–40 тижнів. Критеріями виключення були природжені вади розвитку, затримка внутрішньоутробного розвитку, недоношеність.

Залежно від часу появи клінічних симптомів, дітей основної групи розподілили на групу I, в яку включили 39 дітей, у яких розлади дихання були діагностовані у перші 48 годин життя; у групу II увійшли 30 дітей, клініки у яких з'явилася після 48 годин.

Батьки усіх дітей надали письмову згоду на участь у дослідженні. На проведення дослідження було отримано дозвіл етичного комітету.

Клінічні та параклінічні методи дослідження включали лабораторне та інструментальне обстеження: С-реактивний білок (СРБ), вміст TLR2 у сироватці крові, рентгенологічне дослідження органів грудної клітки. Рівень TLR2 визначали імуноферментним методом за набором Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Toll Like Receptor 2 (Human) (Biomatik, США) відповідно до інструкції фірми-виробника. Чутливість набору <math><0,115\text{ нг/мл}</math>, коефіцієнт варіації <math><10\%</math>.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням методів варіаційної статистики за допомогою пакету комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2009, адаптованого для медико-біологічних обчислень. За умов нормального розподілу величин використано параметричні методи статистики з розрахунком середньої арифметичної величини (M) та похибки репре-

Таблиця 1

Показники вмісту TLR2 у сироватці крові новонароджених дітей (нг/мл)

Показник	I група (n=39)	II група (n=30)	Контрольна група (n=25)
TLR2, нг/мл	0,6±0,08**	1,9±0,03*	0,4±0,03

Примітка.* – достовірність відмінностей з показниками групи контролю $p<0,05$; ** – достовірність відмінностей з показниками I та II груп $p<0,001$.

зентативності середньої величини (m). Порівняння кількісних показників із нормальним розподілом проведено з використанням t-критерію Стьюдента. Різниця параметрів вважалася статистично значущою при $p<0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Нами було проаналізовано показники вмісту TLR2 у сироватці крові новонароджених дітей основної групи та групи контролю у перші три дні життя (табл. 1). Як свідчать отримані дані, вміст TLR2 у сироватці крові дітей, що мали в неонатальному періоді клінічні симптоми дихальної недостатності та інтоксикації, достовірно перевищував показники групи контролю. Однак показник TLR2 у дітей I групи був значно нижчим, ніж у дітей групи II.

Ми проаналізували рівень TLR2 у сироватці крові дітей залежно від важкості стану, враховуючи потребу у проведенні інвазивної дихальної підтримки (ШВЛ). При порівнянні отриманих показників TLR2 у сироватці крові дітей, які потребували інвазивної дихальної підтримки, та тих, що її не потребували, достовірних відмінностей не встановлено ($p>0,05$) (табл. 2).

Таблиця 2

Показники вмісту TLR2 у сироватці крові новонароджених дітей залежно від потреби у ШВЛ (нг/мл)

Показник	I група (n=39)		II група (n=30)	
	ШВЛ проводилась (n=19)	0,7±0,02	ШВЛ проводилась (n=8)	2,0±0,06
ШВЛ не проводилась (n=20)	0,6±0,01	ШВЛ не проводилась (n=22)	1,8±0,03	

Примітка: * – достовірність різниці з показниками дітей, яким ШВЛ не проводилась, $p<0,05$.

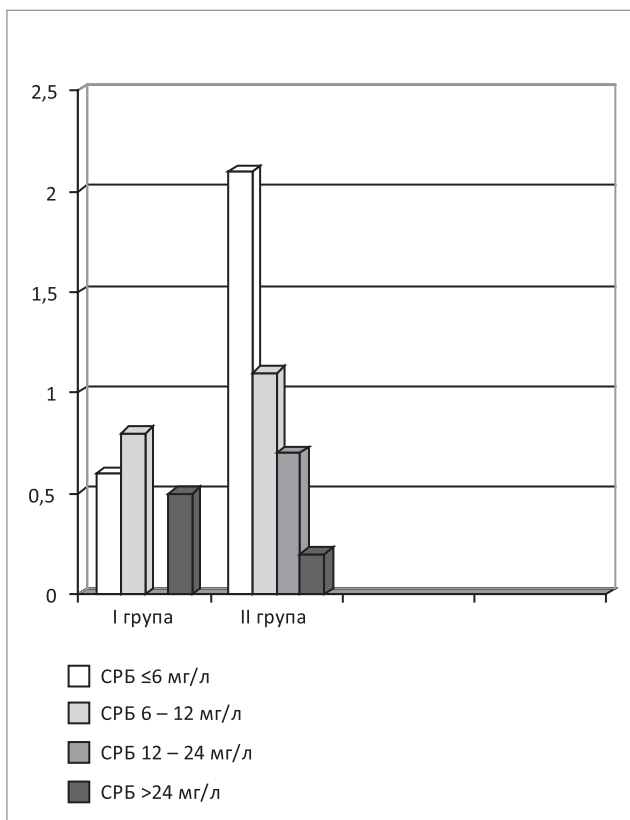


Рис. Показник вмісту TLR2 (нг/мл) у сироватці крові дітей з пневмонією залежно від рівня СРБ

Оскільки визначення СРБ є протокольним тестом, який дозволяє диференціювати вроджену та набуту інфекцію у новонароджених дітей, було проведено аналіз показника TLR2 у сироватці крові дітей, включених у дослідження, залежно від рівня СРБ. За результатами проведеного аналізу виявлено, що чим вищим був показник СРБ у дітей обох досліджуваних груп, тим нижчим — рівень TLR2 у сироватці крові (рис.).

Проведено аналіз вмісту TLR2 у сироватці крові дітей, включених у дослідження, залежно від локалізації та поширеності запального процесу в легенях за даними рентгенографії органів грудної клітки. Встановлено, що у дітей I групи із вогнищевим та сегментарним запаленням вміст TLR2 удвічі перевищував аналогічний показник дітей зі зливними пневмоніями (відповідно $0,7 \pm 0,01$ та $0,3 \pm 0,01$ нг/мл, $p < 0,05$). Натомість у II групі найвищий показник спостерігався у дітей зі зливним запальним процесом ($3,4 \pm 0,07$ нг/мл), а найнижчий — при вогнищевому і сегментарному характері ураження легень ($1,6 \pm 0,03$ нг/мл, $p < 0,05$).

Таким чином, проведене дослідження показало суттєві відмінності у вмісті TLR2 при вродженому і набутому запальному процесі в легенях у доношених новонароджених дітей. Ці дані відкривають перспективу прогнозуван-

ня та диференціації такої складної неонатальної проблеми, якою є пневмонія новонароджених.

Висновки

1. Вміст TLR2 у сироватці крові новонароджених дітей, які мали в неонатальному періоді клінічні симптоми дихальної недостатності та інтоксикації, достовірно перевищував показники групи контролю (відповідно $0,6 \pm 0,08$ нг/мл, $1,9 \pm 0,03$ нг/мл, $p < 0,05$). Водночас показник TLR2 у дітей із вродженою пневмонією був достовірно нижчим, ніж у дітей із набутою пневмонією.

2. Встановлено зворотню залежність вмісту TLR2 від важкості запального процесу в легенях, зокрема від рентгенологічної картини поширеності інфільтративних змін та величини показника СРБ у сироватці крові (чим вищий показник СРБ у сироватці крові, тим нижчий рівень TLR2; із поширенням інфільтративних змін у легенях у дітей II групи спостерігалось збільшення рівня TLR2, а у дітей I групи — зменшення).

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні зв'язків між показниками TLR2 та критеріями важкості вродженої та набутої пневмонії, встановленні діагностичного і прогностичного значення зазначених показників.

ЛІТЕРАТУРА

- Абатуров А. Е. Рецепторные механизмы воспалительного процесса при инфекционных заболеваниях / А. Е. Абатуров, А. П. Волосовец, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. — 2012. — № 4 (39). — С. 138—141.
- Абатуров А. Е. Роль TOLL-подобных рецепторов в рекогниции патоген-ассоциированных молекулярных структур инфекционных патогенных агентов и развитии воспаления. Часть 1. Семейство TLR / А. Е. Абатуров, А. П. Волосовец, Е. И. Юлиш // Здоровье ребенка. — 2012. — № 5 (40). — С. 116—121.
- Бережная Н. М. Физиология TOLL-подобных рецепторов — регуляторов врожденного и приобретенного иммунитета / Н. М. Бережная, Р. И. Сепиашвили // Физиологический журнал. — 2011. — Т. 57, № 5. — С. 26—29.
- Бехало В. А. Регуляция врожденного иммунного ответа в очаге хронического воспаления / В. А. Бехало, Е. В. Сысолятина, Е. В. Нагурская // Иммунология. — 2009. — № 3. — С. 184—189.
- Осипчук Д. В. Активация Толл-подобных рецепторов у повноцінній імунній відповіді / Д. В. Осипчук, Б. В. Донської, В. П. Чернишов // Перинатология и педиатрия. — 2014. — № 1. — С. 68—73.
- A novel Toll-like receptor / Z. Shi, Z. Cai, A. Sanchez [et al.] // Immunology and Cell biology. — 2011. — Vol. 286. — P. 4517—4524.
- Borrello S. TLR2: a crossroads between infections and autoimmunity? / S. Borrello, C. Nicolt, G. Delogu // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. — 2011. — Vol. 24 (3). — P. 549—456.
- Hua Z. TLR signaling in B-cell development and activation / Z. Hua, B. Hou // Cellular & Molecular Immunology. — 2013. — Vol. 10. — P. 103—106.
- Oliveira-Nascimento L. The Role of TLR2 in Infection and Immunity / L. Oliveira-Nascimento, P. Massari, L. M. Wetzler // Front Immunol. — 2012. — Vol. 3. — P. 79.
- Ontogeny of Toll-like receptor mediated cytokine responses of human blood mononuclear cells / N. P. Corbett, D. Blimkie, K. C. Ho [et al.] // PLoS One. — 2010. — Vol. 5 (11). — P. 15—41.

Роль TLR2 в реализации врожденных и приобретенных пневмоний у новорожденных детей

О.С. Яблонь, И.И. Реминная

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

Цель: исследовать роль Toll2-подобных рецепторов в процессе реализации врожденной и приобретенной пневмонии у новорожденных детей.

Пациенты и методы. Проведено клинико-параclinical обследование 69 доношенных новорожденных, больных пневмонией. Применялись клинические и параclinical методы обследования: С-реактивный белок (СРБ), содержание Toll Like Receptor 2 (TLR2) в сыворотке крови, рентгенологическое исследование органов грудной клетки.

Результаты. Обнаружено, что содержание TLR2 у детей, имевших клинику расстройств дыхания в первые 48 часов жизни, было значительно ниже, чем у детей, клиника у которых появилась после 48 часов. Не выявлено достоверной разницы между показателями TLR2 у детей, получавших инвазивную дыхательную поддержку, и теми, которым она не требовалась. Определена зависимость показателя TLR2 от уровня СРБ — чем выше этот показатель, тем ниже уровень TLR2 (у детей обеих исследуемых групп). Оценка показателя TLR2 в зависимости от локализации воспалительного процесса в легких, в частности от рентгенологической картины распространенности инфильтративных изменений в легких у детей II группы наблюдалось увеличение уровня TLR2, а у детей I группы — уменьшение.

Выводы. Содержание TLR2 в сыворотке крови новорожденных детей, имеющих в неонатальном периоде клинические симптомы дыхательной недостаточности и интоксикации, достоверно превышало показатели группы контроля. Вместе с тем показатель TLR2 у детей с врожденной пневмонией был достоверно ниже, чем у детей с приобретенной пневмонией. Установлена обратная зависимость содержания TLR2 от тяжести воспалительного процесса в легких, в частности от рентгенологической картины распространенности инфильтративных изменений и величины показателя СРБ в сыворотке крови.

Ключевые слова: неонатальные пневмонии, Toll2-подобные рецепторы, С-реактивный белок, рентгенологическое исследование органов грудной клетки.

The role of TLR2 in the implementation of congenital and acquired pneumonia in newborn infants

O.S. Yablon, I.I. Reminna

Vinnitsa National Medical University M.I. Pirogov, Ukraine

Objective: To investigate the role of Toll2-like receptors in the implementation of congenital and acquired pneumonia in newborn infants.

Materials and methods. Clinical and paraclinical studies of 69 term infants with pneumonia. They completed clinical and paraclinical survey methods (C-reactive protein, Toll Like Receptor 2 content in the blood serum, X-ray examination of the chest).

Results and discussion. It is found that the content of TLR2 in children who had respiratory disorders clinic during the first 48 hours of life was significantly lower than in children, which clinic was appeared after 48 hours. Analyzing the level of TLR2 in children, depending on the need for an invasive respiratory support, it was concluded that there is no significant difference between the indicators of TLR2 for newborns in need and indicators of those that did without invasive respiratory support. It was also determined the dependence of TLR2 indicator of CRP levels — the higher the score, the lower the level of TLR2 (children both groups of study). Evaluation index TLR2, depending on the localization of the inflammatory process in the lungs, showed that with the proliferation of infiltrative changes in lung, in children II group there was an increase in the level of TLR2 and in children I group — reduction.

Conclusions. TLR2 content in the blood serum of newborns that have clinical signs of respiratory distress and intoxication in neonatal period, significantly exceeded the indicators of the control group. However, TLR2 index in infants with congenital pneumonia was significantly lower than in children with acquired pneumonia. Was established the inverse relation between the content TLR2 from severity of inflammation in the lung, in particular from radiographic image of prevalence infiltrative changes and parameter values of serum CRP.

Keywords: neonatal pneumonia, Toll2-like receptors, C-reactive protein, X-ray examination of the chest.

Сведения об авторах:

Яблонь Ольга Степановна — д.мед.н., проф., зав. каф. педиатрии №1 Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова.

Адрес: г. Винница, ул. Хмельницкое шоссе, 108.

Реминная Инна Игоревна — аспирант каф. педиатрии №1 Винницкого национального медицинского университета им. М.И. Пирогова.

Адрес: г. Винница, ул. Хмельницкое шоссе, 108.

Статья поступила в редакцию 20.11.2016 г.

НОВОСТИ

Минздрав подготовил календарный план внедрения реформы

С января в Украине стартовал первый этап медицинской реформы, который заключается в изменении финансирования первичного звена медицинской помощи.

В течение первого полугодия медицинская отрасль будет работать в штатном режиме, подготовительная работа пройдет на уровне Минздрава, правительства, парламента, региональных управлений здравоохранения, общин и медицинских учреждений.

В первом полугодии 2017 года предусматривается следующее:

- доработка нормативной базы по реформированию, в частности, двух законов и ряда приказов Минздрава;
- адаптация международных протоколов лечения для первичного звена;
- формирование гарантированного перечня услуг (в связи с увеличением расходов бюджета на медици-

ну в 2017 году средняя стоимость обслуживания пациента на первичке будет пересмотрена в сторону увеличения);

— утверждение правительством состава и границ госпитальных округов;

— внедрение в феврале 2017 года референтного ценообразования;

— внедрение реимбурсации лекарств с апреля 2017 года;

— разработка и внедрение первого компонента электронного здравоохранения — реестра пациентов, врачей, медицинских учреждений.

Сейчас Минздрав подготовил календарный план внедрения реформы, который ожидает утверждения Кабмином, сообщает ЛІГА:ЗАКОН.

Источник: med-expert.com.ua