

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЦИТОКІНІВ ТА СУДИННОГО ЕНДОТЕЛІАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТУ У РОЗВИТКУ БРОНХОЛЕГЕНЕВОЇ ДИСПЛАЗІЇ

О.А. Биковська

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Україна
Вінницька обласна дитяча клінічна лікарня, Україна

Мета: вивчити рівень інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) у сироватці крові для дослідження їх патогенетичного значення в розвитку бронхолегеневої дисплазії (БЛД) у глибоко недоношених дітей.

Пацієнти та методи. У 78 недоношених дітей з БЛД (досліджувані групи) і 30 дітей групи порівняння проведено загальноклінічні аналізи на 1 та 4-му тижнях життя. Вміст ІЛ-6, ІЛ-10 у сироватці крові визначено твердофазним імуноферментним методом; вміст VEGF — імуноферментним методом.

Результати. Встановлено, що показники ІЛ-6, ІЛ-10 та VEGF є не лише важливими предикторами розвитку БЛД, але й маркерами тяжкості захворювання. Низький рівень VEGF можна вважати предиктором смерті дитини від БЛД у постнатальному періоді.

Висновки. Значення вищезазначених цитокінів у формуванні БЛД підтверджено тісними кореляційними зв'язками досліджуваних показників з тривалістю кисневої залежності, тривалістю перебування дітей на штучній вентиляції легенів.

Ключові слова: бронхолегенева дисплазія, судинний ендотеліальний фактор росту, цитокіни.

Вступ

Бронхолегенева дисплазія (БЛД), до якої схильні глибоко недоношені діти, на сьогодні є одним з найважчих і недостатньо вивчених захворювань [8, 9]. Розвиток БЛД обумовлює вищий рівень захворюваності, вищий ризик вторинних госпіталізацій та вищий ризик смерті в постнатальному періоді [5, 7]. Бронхолегенева дисплазія є багатфакторним захворюванням — множинні фактори відіграють роль у її розвитку, ймовірно, у пошкодженні вони діють сукупно або синергічно [1, 6]. Виникнення захворювання може бути пов'язано з антенатальною інфекцією, дією медіаторів запалення, штучною вентиляцією легень (ШВЛ), генетичним поліморфізмом [10]. Значну увагу науковців привертає участь факторів росту і цитокінів у процесах патогенезу БЛД у недоношених дітей [4]. Відомо, що провідну роль у виникненні БЛД відіграє запалення, причому незрілі легені ушкоджуються, ймовірно, внаслідок дисбалансу прозапальних і протизапальних цитокінів, протеолітичних ферментів та їх інгібіторів [3].

В Україні після введення критеріїв реєстрації перинатального періоду, відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я, щороку зростає кількість глибоко недоношених новонароджених, які є основною групою ризику щодо розвитку БЛД [2]. Водночас, патогенетичні механізми пошкодження легеневої тканини при формуванні захворювання у даній категорії дітей все ще недостатньо вивчені. Тому необхідно дослідити роль цитокінів, факторів росту, які беруть участь у нормальному альвеолярному і судинному розвитку легень.

Мета роботи — вивчити рівень інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) у сироватці крові для дослідження їх патогенетичного значення в розвитку БЛД у глибоко недоношених дітей.

Матеріал і методи дослідження

Під нашим спостереженням знаходилося 78 недоношених дітей, які лікувалися у неонатальному центрі Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні. Залежно від потреби у додатковій кисневій терапії в 36 тижнів постконцептуального віку, відповідно до сучасних критеріїв тяжкості БЛД, дітей було розподілено на 3 групи: 1-а група — 22 дитини з БЛД легкого ступеня; 2-а група — 19 дітей з БЛД середнього ступеня важкості; 3-я група — 7 дітей з важкою БЛД. Групу порівняння становили 30 недоношених дітей з гестаційним віком менше 32 тижнів і масою тіла при народженні менше 1500 г, які у неонатальному періоді отримували лікування з використанням додаткового кисню менше 28 діб.

Забір проб крові проводився при проведенні загальноклінічних аналізів на 1 та на 4-му тижнях життя. Вміст ІЛ-6, ІЛ-10 у сироватці крові визначався твердофазним імуноферментним методом з використанням стандартних наборів «Human IL-6 ELISA», «Human IL-10 ELISA» фірми «Diasclone» (відповідно до інструкції фірми виробника). Вміст у сироватці крові людського VEGF визначався імуноферментним методом з використанням стандартного набору реактивів «Human VEGF» фірми «Invitrogen»

Таблиця 1

Рівні цитокінів ІЛ-6, ІЛ-10 у сироватці крові на 1-му тижні життя та в динаміці на 4-му тижні життя

Показник, пг/мл	Ступінь бронхолегеневої дисплазії			Група порівняння, n=30 M±m
	легкий, n=22 M±m	середньої тяжкості, n=19 M±m	тяжкий, n=7 M±m	
ІЛ-6, 1-й тиждень	9,46±2,0	72,69±27,6*	291,65±122,9*	8,91±2,1
ІЛ-6, 4-й тиждень	5,96±1,2	1,85±0,5*	0,54±0,3*	5,3±1,6
ІЛ-10, 1-й тиждень	32,87±9,3*	9,26±1,4*	5,5±0,7*	12,45±1,4
ІЛ-10, 4-й тиждень	23,64±8,5	1,03±0,5*	0*	6,48±1,9

Примітка. * — вірогідні відмінності щодо дітей групи порівняння, p<0,05.

Таблиця 2

**Рівні судинного ендотеліального фактора росту в сироватці крові
на 1-му тижні життя та в динаміці на 4-му тижні життя**

Показник, пг/мл	Ступінь бронхолегеневої дисплазії			Група порівняння, n=30 M±m
	легкий, n=22 M±m	середньої тяжкості, n=19 M±m	тяжкий, n=7 M±m	
VEGF, 1 т. ж.	155,33±58,3	189,77±61,2	191,23±62,4	147,7±38,6
VEGF, 4 т. ж.	543,1±145,3*	429,81±108,8*	573,7±163,2*	151,77±22,7

Примітка. * – вірогідні відмінності щодо дітей групи порівняння, $p < 0,05$.

(відповідно до інструкції фірми-виробника). Показники оптичної щільності визначалися на автоматичному імуноферментному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Статистична обробка результатів проводилася з використанням пакету програм Microsoft Excel, Windows XP. Для оцінки взаємозв'язку між ознаками використовувалася кореляційний аналіз. Для оцінки достовірності різниці середніх величин розраховувався критерій Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

При аналізі отриманих результатів встановлено чітку залежність рівня ІЛ-6, визначеного на 1-му тижні життя, від ступеня тяжкості БЛД (табл. 1).

Так, при легкій БЛД рівень ІЛ-6 був ідентичним рівню групи порівняння, тоді як у дітей, що в наступному мали БЛД середнього і важкого ступенів, рівень ІЛ-6 у сироватці крові вірогідно різнився від такого у групі дітей без БЛД та в 8–15 разів перевищував значення в групі порівняння ($p < 0,05$). При визначенні даного показника в динаміці на 4-му тижні життя спостерігались обернено спрямовані зміни. Якщо у дітей з БЛД I ступеня тяжкості рівень ІЛ-6 вірогідно не відрізнявся від рівня групи порівняння ($5,96 \pm 1,2$ пг/мл проти $5,3 \pm 1,6$ пг/мл відповідно), то у дітей, в яких у подальшому сформувалася БЛД середнього і важкого ступенів, даний показник значно знизився в динаміці ($p < 0,05$).

Аналіз отриманих результатів дав змогу встановити вірогідні відмінності щодо рівня ІЛ-10 у дітей з БЛД порівняно з групою дітей без БЛД (табл. 1). У групі дітей з легкою БЛД рівень протизапального цитокіну на 1-му тижні життя був вірогідно вищим ($32,87 \pm 9,3$ пг/мл проти $12,45 \pm 1,4$ пг/мл відповідно), ніж у дітей групи порівняння ($p < 0,05$). Натомість у дітей, що мали важкі прояви БЛД, показник ІЛ-10 на 1-му тижні життя становив від $9,26 \pm 1,4$ пг/мл до $5,5 \pm 0,7$ пг/мл, і це вірогідно менше, ніж у дітей групи порівняння ($p < 0,05$). При визначенні ІЛ-10 на 4-му тижні життя даний показник знизився в усіх групах. Вірогідні відмінності виявлялися у діти з БЛД середнього ступеня важкості, рівень ІЛ-10 у цій групі був у 6 разів нижчим, ніж у групі порівняння ($p < 0,05$). У дітей з важкими проявами БЛД ІЛ-10 взагалі не спостерігався в динаміці.

При визначенні рівня VEGF у сироватці крові на 1-му тижні життя не було вірогідних відмінностей в групах дослідження (табл. 2).

При визначенні даного показника на 4-му тижні життя виявлено, що, незалежно від тяжкості захворювання, вміст VEGF зріс у динаміці. Рівень VEGF вірогідно відрізнявся в даних групах проти групи немовлят без БЛД і в 2,5–3,5 разу перевищував показники дітей групи порівняння ($p < 0,05$).

Отримані дані вказали на активну участь запальної реакції в ушкодженні легеневої тканини та розвитку БЛД. Експресія ІЛ-6 на 1-му тижні життя вірогідно асоціювалася з розвитком в наступному більш важкого ступеня захворювання. Високі рівні ІЛ-6 відразу після народження у дітей, що в наступному мали найважчі прояви БЛД, засвідчили можливе пошкодження легеневої тканини ще до народження. Нами встановлено порушення рівноваги між прозапальними і протизапальними цитокінами, про що вказали високі рівні ІЛ-6 і низькі рівні ІЛ-10 на 1-му тижні життя у дітей з БЛД середнього і важкого ступенів, що співпало з літературними даними [8]. Слід зазначити, що у дітей з тяжкою БЛД ІЛ-10 взагалі не визначався на 4-му тижні життя.

Надмірна запальна реакція призвела до зростання рівня VEGF у динаміці для забезпечення нормального судинного розвитку легеневої тканини. Ми спостерігали різну величину експресії VEGF у дітей з тяжкою БЛД, які вижили та які померли. У дітей з важкими проявами БЛД, які вижили, рівень зазначеного цитокіну на 4-му тижні життя становив у середньому $1149,2 \pm 124,3$ пг/мл. Натомість, у дітей, які померли, рівень VEGF значно знизився в динаміці в середньому до $31,6 \pm 9,8$ пг/мл.

Кореляційний аналіз продемонстрував вірогідні зв'язки між значеннями цитокінів і VEGF, визначеними на 1-му тижні життя (табл. 3).

Встановлено вірогідний зворотній зв'язок середньої сили між рівнями ІЛ-6 і ІЛ-10 ($r = -0,50$; $p < 0,05$), а також вірогідний прямий сильний зв'язок між рівнями ІЛ-6 та VEGF ($r = 0,87$; $p < 0,05$). Між ІЛ-10 і VEGF знайдено вірогідний зворотний кореляційний зв'язок середньої сили ($r = -0,62$; $p < 0,05$).

Проведений кореляційний аналіз підтвердив дисбаланс між ІЛ-6 і ІЛ-10 на 1-му тижні життя.

Виявлено вірогідний прямий кореляційний зв'язок середньої сили між рівнями ІЛ-6 і VEGF, з одного боку, та тривалістю ШВЛ, з іншого боку, ($r = 0,43$ – $0,64$; $p < 0,05$) у

Таблиця 3

Оцінка зв'язку між рівнем ІЛ-6, ІЛ-10, VEGF на 1-му тижні життя і тяжкістю проявів бронхолегеневої дисплазії

Показник	Кореляція		
	ІЛ-6	ІЛ-10	VEGF
ІЛ-6, пг/мл	1	-0,50*	0,87*
ІЛ-10, пг/мл	-0,50*	1	-0,62*
VEGF, пг/мл	0,87*	-0,62*	1
Тривалість ШВЛ, дні	0,64*	-0,3	0,43*
Тривалість кисневої залежності, дні	0,30	-0,51*	0,21

Примітка * – вірогідний коефіцієнт кореляції, $p < 0,05$.

дітей з БЛД. Аналіз отриманих даних засвідчив вірогідний зворотній зв'язок середньої сили між значенням ІЛ-10 і тривалістю оксигенотерапії. Кореляційний аналіз продемонстрував вірогідні зв'язки між рівнем VEGF на 4-му тижні життя та особливостями перебігу БЛД. Виявлено вірогідний прямий зв'язок середньої сили між рівнем VEGF, визначеним на 4-му тижні життя, та тривалістю ШВЛ, тривалістю кисневої залежності ($r=0,40-0,41$; $p<0,05$) у дітей з БЛД.

Отримані результати кореляційного аналізу підтвердили те, що показники запальної реакції, а також судинний ендотеліальний фактор росту є не лише важливими предикторами розвитку БЛД, але й маркерами тяжкості захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Добрянський Д.О. Сучасні аспекти проблеми бронхолегеневої дисплазії у новонароджених / Д.О. Добрянський // *Матеріали І з'їзду неонатологів України*. — Одеса, 2007. — С. 42—46.
2. Шунько Є.Є. Перспективи підвищення якості перинатальної та неонатологічної допомоги в Україні / Є.Є. Шунько // *Проблеми та перспективи розвитку допомоги новонародженим в Україні: матер наук.—практ. конф.* — Харків, 2008. — С. 8—13.
3. Baraldi E. Chronic Lung Disease after premature birth / E. Baraldi, M. Filippone // *N. Engl. J. Med.* — 2007. — Vol. 357. — P. 1946—1955.
4. Bose C. Bronchopulmonary dysplasia and inflammatory biomarkers in the premature neonate / C. Bose, C. Dammann, M. Laughon // *Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal Ed.* — 2008. — Vol. 93. — P. F455—F461.
5. Eichenwald E. Are postnatal steroids ever justified to treat severe BPD? / E. Eichenwald, A. Stark // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* — 2007. — Vol. 92. — P. 334—337.
6. Impact of a physiologic definition on bronchopulmonary dysplasia / M.C. Walsh, Q. Gao, P. Gettner, E.Hale [et al.] // *Pediatrics*. — 2004. — Vol. 114. — P. 1305—1311.
7. Jobe A. The new BPD / A. Jobe // *NeoReviews*. — 2006. — Vol. 7 (10). — P. 531—537.
8. Kinsella J. Bronchopulmonary dysplasia / J. Kinsella, A. Greenough, S.H. Abman // *Lancet*. — 2006. — Vol. 367. — P. 1421—1431.
9. NICHD Neonatal Research Network. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants / A.A. Fanaroff, B.J. Stoll, L.L. Wright [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2007. — Vol. 196. — P. 147e1—147e8.
10. Voelkel N. Vascular endothelial growth factor in the lung / N. Voelkel, R. Vandivier, R. Tuder // *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* — 2006. — Vol. 290. — P. 209—221.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВ И СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В РАЗВИТИИ БРОНХОЛЕГЕЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ

О.А. Быковская

Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова, Украина
Винницкая областная детская клиническая больница, Украина

Цель: изучить уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-10 (ИЛ-10), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови для исследования их патогенетического значения в развитии бронхолегочной дисплазии (БЛД) у глубоко недоношенных детей.

Пациенты и методы. У 78 недоношенных детей с БЛД (исследуемые группы) и 30 детей группы сравнения проведены общеклинические анализы на 1 и 4-й неделях жизни. Содержание ИЛ-6, ИЛ-10 в сыворотке крови определено твердофазным иммуноферментным методом; содержание VEGF — иммуноферментным методом.

Результаты. Установлено, что показатели воспалительной реакции (ИЛ-6, ИЛ-10), а также VEGF являются не только важными предикторами развития БЛД, но и маркерами тяжести заболевания. Низкий уровень VEGF можно считать предиктором смерти ребенка от БЛД в постнатальном периоде.

Выводы. Значение вышеперечисленных цитокинов в формировании БЛД подтверждается тесными корреляционными связями исследуемых показателей с длительностью зависимости от кислорода, длительностью искусственной вентиляции легких.

Ключевые слова: бронхолегочная дисплазия, сосудистый эндотелиальный фактор роста, цитокины.

PATHOGENETIC ROLE OF CYTOKINES AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN DEVELOPMENT OF BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA

О.А. Быковская

M.I. Pirogov Vinnitsa National Medical University, Ukraine
Vinnytsia Regional Children's Clinical Hospital, Ukraine

Purpose: To examine the level of interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), vascular endothelial growth factor (VEGF) in the blood serum for the study of pathogenic importance in the development of bronchopulmonary dysplasia (BPD) in very preterm infants.

Patients and methods. General clinical analyzes for the 1st and 4th week of life were conducted to 78 premature infants with bronchopulmonary dysplasia (study groups) and to 30 children of comparison group. The content of IL-6, IL-10 in the blood serum is determined by the way of solid phase immunoenzyme method; content of VEGF — by immunoenzyme method.

Results. It is found that the indicators of the inflammatory response (IL-6, IL-10), and VEGF is not only important predictors of BPD development but also as a markers of disease severity. Low level of VEGF can be considered as a predictor of a child's death from BPD in the postnatal period.

Conclusions. The role of the above-listed cytokines in formation of BPD is confirmed by close correlation relationship of studied parameters with the duration of the dependence on oxygen, the duration of mechanical lung ventilation.

Key words: bronchopulmonary dysplasia, vascular endothelial growth factor, cytokines.