

Белки острой фазы ответа у детей с хроническими заболеваниями желудка и 12-перстной кишки и хронической ЛОР-патологией

Л. Л. Гаврилик¹, С. А. Лялик¹, М. Собеска², К. Викторович²

¹ Государственный медицинский университет, г. Гродно, Беларусь

² Медицинская Академия, г. Познань, Республика Польша

Features of acute phase response in children with a chronic gastroduodenitis and chronic diseases of ear, nose and throat

L. Haurlyk¹, S. Lialikau¹, M. Sobieska², K. Viktorovich²

¹ Medical University, Grodno, Belarus

² Medical University, Poznan, Poland

Аннотация

Целью работы было исследование особенностей острой фазы ответа у детей с хроническими гастродуоденитами (ХГД) и хронической ЛОР-патологией (ХЛП) в период ремиссии. У 162 детей в возрасте от 2 до 16 лет в сыворотке крови методом ракетного иммуноэлектрофореза определяли концентрацию и микрогетерогенность белков острой фазы. Установлено, что при ХЛП увеличивается сывороточное содержание α 2-макроглобулина и изменяется соотношение микрогетерогенных вариантов трансферрина. Наличие ХГД ассоциировано с увеличением уровня гаптоглобина и α 1-кислого гликопротеина за счёт его микрогетерогенного варианта W0, изменением соотношения вариантов A3 и A5 антихимотрипсина. Выявленные различия, вероятно, обусловлены тем, что при ХЛП в период клинической ремиссии воспаление поддерживается за счёт наличия инфекции, а при ХГД связано с аутоиммунным процессом.

Ключевые слова

Белки острой фазы, α 1-кислый гликопротеин, α 1 антихимотрипсин, α 1 антитрипсин, гаптоглобин, α 2-макроглобулин, церулоплазмин, трансферрин, хронический гастродуоденит, хронические заболевания ЛОР-органов.

При инфекционном процессе, неоплазии, аутоиммунных заболеваниях, инфаркте, чрезмерных физических и психических нагрузках, хирургической интервенции, любых травмах и т.д. воспаление протекает в общих чертах однотипно [1], однако конкретный сценарий зависит от вида вовлекаемых в процесс иммунокомпетентных клеток и характера выделяемых ими регуляторных факторов. Во всех случаях воспаление сопровождается изменением

Summary

The aim of this study was to estimate the features of acute phase response in children with a chronic gastroduodenitis (CGD) and chronic diseases of ear, nose and throat (DENT) during remission. The serum concentrations and glycosylation profiles of acute phase proteins were determined in 162 children. It is established, that serum level of α 2-macroglobulin increases and the ratio of transferrin variants changes in patients with DENT. CGD is associated with increase of haptoglobin and α 1-acid glycoprotein (AGP) levels due to variant W0 AGP, change of variants A3 and A5 α 1-antichymotrypsin ratio. The revealed distinctions, probably, are caused by the features of inflammation: in patients with DENT in clinical remission it is supported due to an infection, in patients with CGD it is connected to autoimmune process.

Keywords

Acute phase proteins, α 1-acid glycoprotein, α 1-antichymotrypsin, α 1-antitrypsin, haptoglobin, α 2-macroglobulin, ceruloplasmin, transferrin, chronic gastroduodenitis, chronic diseases of ear, nose and throat.

концентрации так называемых белков острой фазы (БОФ). К БОФ относят свыше 30 протеинов, большинство из которых гликопротеины — белки, образующиеся в результате ковалентного присоединения одного или нескольких углеводных остатков к аминокислоте аспарагина или реже к гидроксильной группе серина или треонина. Процесс присоединения углеводных остатков носит название гликозилирования [2]. Гетерогенный характер углеводных остат-

ков гликопротеинов, формирующийся в процессе гликозилирования, определяют термином «микрорегетерогенность» [3]. В норме соотношение микрорегетерогенных вариантов данного гликопротеина является величиной постоянной. Изменения синтеза БОФ в гепатоцитах являются результатом изменений транскрипции их генов под воздействием ряда цитокинов. Следует отметить, что различные цитокины не одинаково влияют на продукцию БОФ. Интерлейкин-1 (ИЛ-1) и фактор некроза опухолей стимулируют синтез С-реактивного белка (CRP), сывороточного амилоида А, α 1-кислого гликопротеина (AGP), С3-компонента комплемента (БОФ 1й группы), но подавляют продукцию фибриногена, гаптоглобина (HG) и гемопексина (БОФ 2й группы). ИЛ-6, ИЛ-11, онкостатин М стимулируют синтез БОФ 2й группы и являются синергистами ИЛ-1 в отношении БОФ 1й группы. Эти же цитокины влияют и на посттрансляционные процессы гликозилирования белков [4], причем изменения в структуре боковых олигосахаридных цепей происходят параллельно или даже раньше изменений концентрации БОФ [5]. Таким образом, от спектра цитокинов, вырабатываемых в ходе воспаления, зависит спектр и микрорегетерогенность БОФ. Так как период полувыведения у большинства острофазовых белков значительно больше, чем у провоспалительных цитокинов, определение БОФ может быть использовано для уточнения механизмов воспалительных реакций вне фазы обострения.

Целью данной работы было исследование параметров острофазового ответа при хронических гастродуоденитах (ХГД) и хронической ЛОР-патологией (ХЛП) в период ремиссии и выявление особенностей воспалительного процесса при этих заболеваниях.

Материалы и методы

162 ребёнка в возрасте от 2 до 16 лет (74 мальчика и 88 девочек) были распределены на четыре группы. В первую (контрольную) группу было включено 60 детей, которые не имели признаков ХГД и ХЛП. Вторую

группу составили 26 детей, страдающих ХЛП в сочетании с ХГД, третью — 24 ребёнка с ХГД и четвертую — 52 ребёнка с ХЛП (хроническим тонзиллитом и/или хроническим ринофарингитом). На момент обследования ни один ребёнок не страдал какой-либо острой патологией, а хронические заболевания у детей 2й — 4й групп были в стадии клинической ремиссии.

В сыворотке крови у детей методом ракетного иммуноэлектрофореза по Laurell [6] определяли концентрацию CRP, HG, AGP, α 1 антихимотрипсина (ACT), трансферрина (TF), антитрипсина (AT), церулоплазмينا (CP) и α 2-макроглобулина (α 2-MG) (использовались антитела и стандартный раствор сыворотки производства Дания, DAKOPATTS). С помощью перекрестного афинного иммуноэлектрофореза по Vog-Hansen [7] в модификации Mackiewiczca [8] по реакции с конканавалином А (Sigma) исследовали микрорегетерогенность AGP, ACT и TF. Титр антител к *Helicobacter pylori* (AbHP) определяли методом ELISA с использованием наборов фирмы EUROIMMUN.

Статистический анализ проводили методами многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и непараметрическими методами (Kruskal-Wallis test, Median test, Mann-Whitney test) с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

Уровень CRP в сыворотке крови у всех детей 1й-4й групп не превышал 5 мг/л, что подтверждает отсутствие острых воспалительных реакций у обследованных. При сравнительном анализе сывороточной концентрации прочих БОФ установлено, что доля варианта AGP W2 достоверно выше, по сравнению с контролем, у детей с ХЛП ($\chi^2=4,76$; $p=0,03$; рис. 1). Уровень ACT и доля его варианта A5 у детей 2й группы существенно выше, чем в 1й группе (соответственно $\chi^2=13,16$; $p=0,0003$, рис. 2 и $H=7,07$; $p=0,008$, рис. 3), а доля вариантов A2 и A4 ACT больше у детей с ХЛП (соответственно $H=3,89$; $p=0,049$, рис. 4 и $H=9,09$; $p=0,003$; рис. 5).

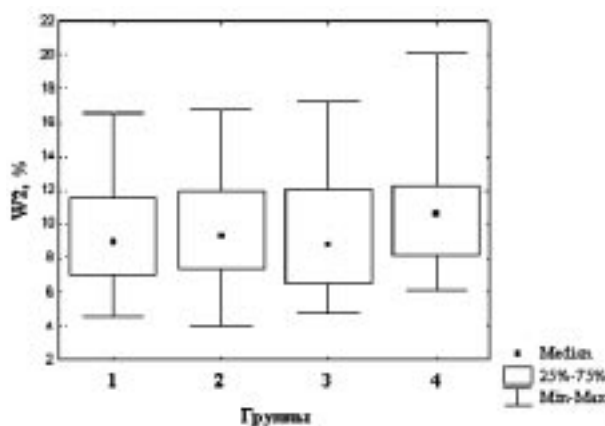


Рис. 1. Процентное содержание варианта W2 AGP у детей из различных групп.

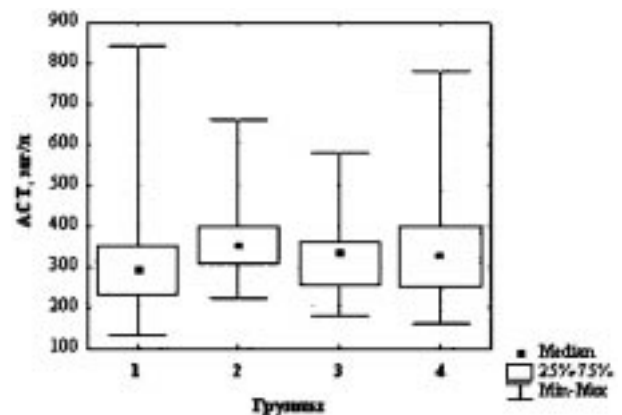


Рис. 2. Сывороточное содержание ACT (мг/л) у детей из различных групп.

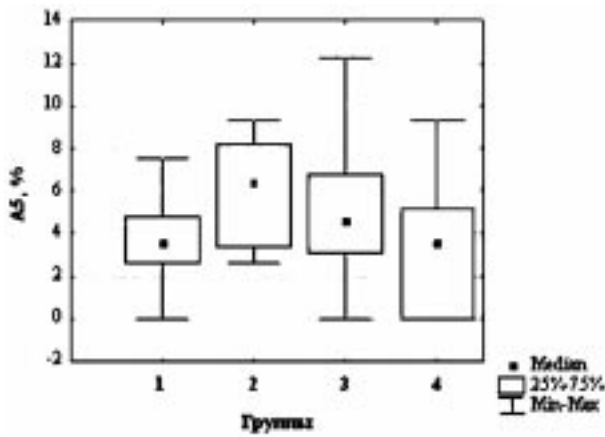


Рис. 3. Процентное содержание варианта A5 АСТ у детей из различных групп.

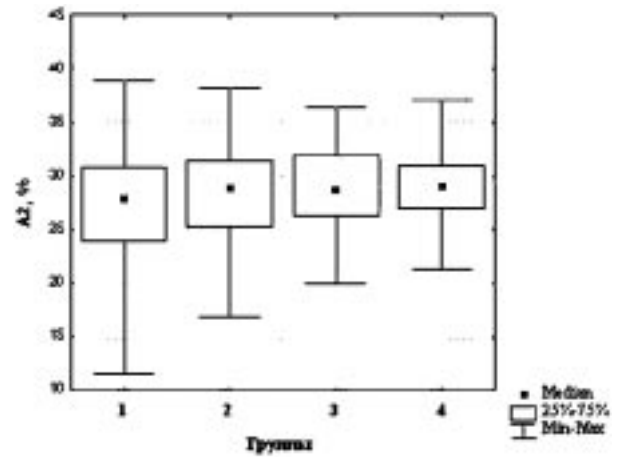


Рис. 4. Процентное содержание варианта A2 АСТ у детей из различных групп.

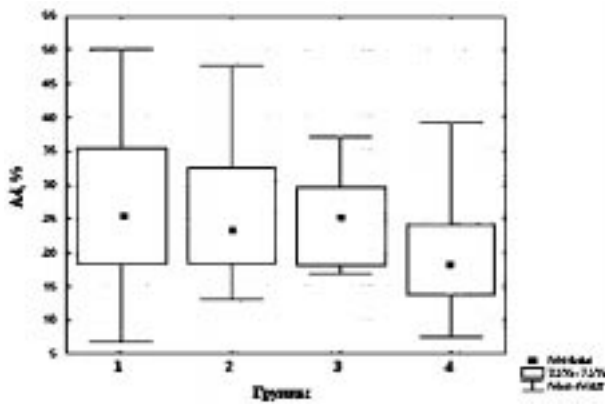


Рис. 5. Процентное содержание варианта A4 АСТ у детей из различных групп.

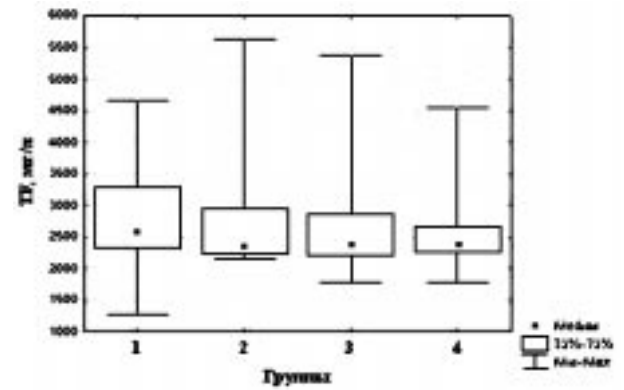


Рис. 6. Сывороточное содержание TF (мг/л) у детей из различных групп.

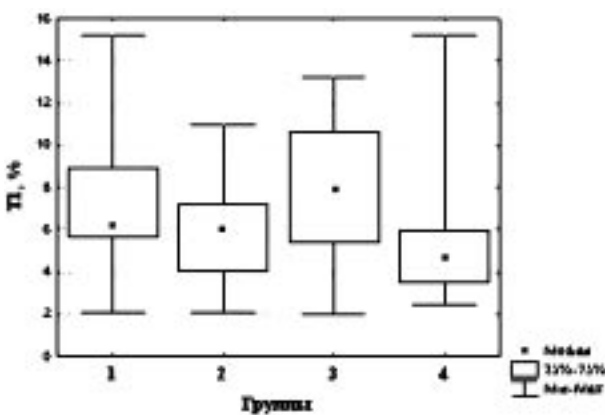


Рис. 7. Процентное содержание варианта T1 TF у детей из различных групп.

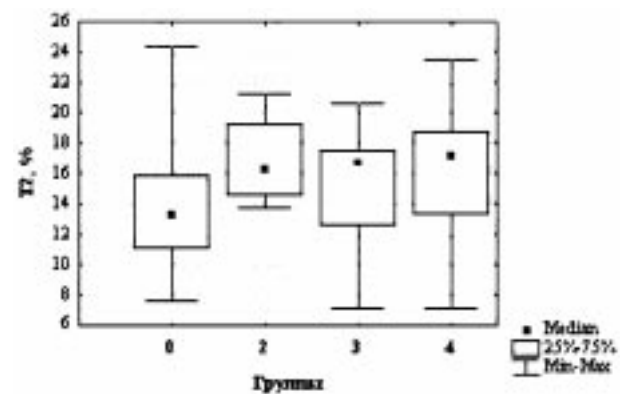


Рис. 8. Процентное содержание варианта T2 TF у детей из различных групп.

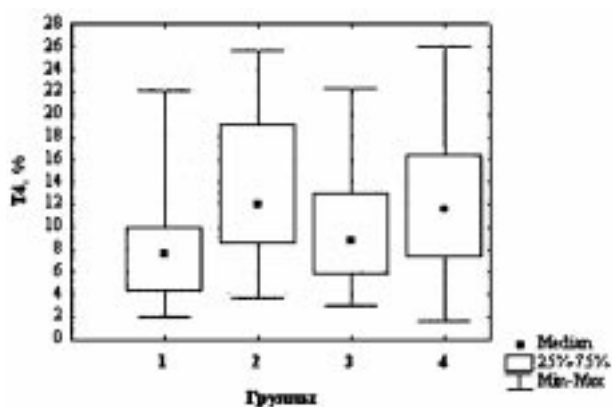


Рис. 9. Процентное содержание варианта T4 TF у детей из различных групп.

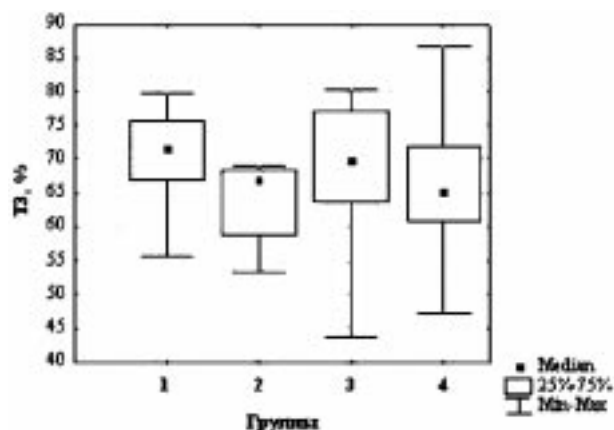


Рис. 10. Процентное содержание варианта T3 TF у детей из различных групп.

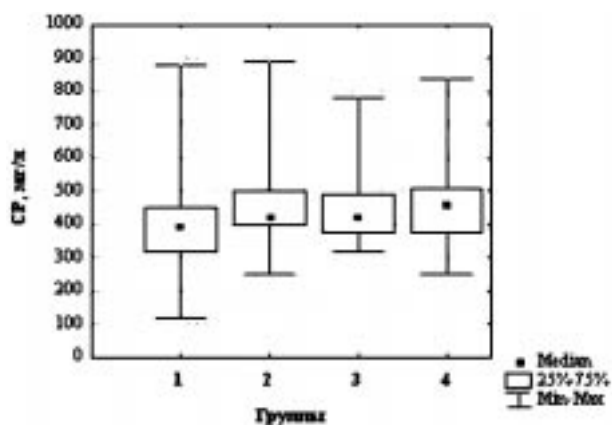


Рис. 11. Сывороточное содержание СР (мг/л) у детей из различных групп.

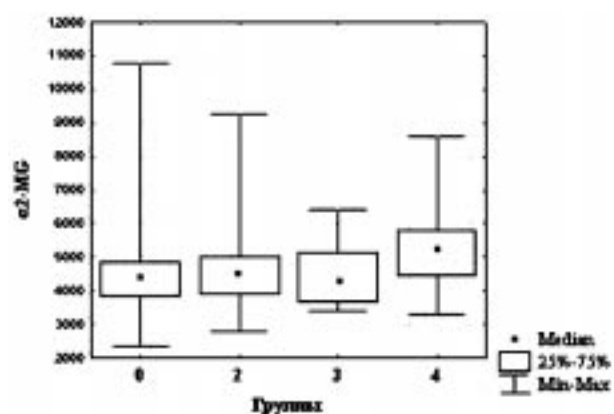


Рис. 12. Сывороточное содержание α 2-MG (мг/л) у детей из различных групп.

У детей 4й группы достоверно ниже, чем в контроле концентрация TF ($\chi^2=6,08$; $p=0,01$; рис. 6), и доля его варианта T1 ($N=10,57$; $p=0,001$; рис. 7). Во 2й и 4й группах процентное содержание вариантов T2, T4 TF существенно больше, чем в контроле (для 2й группы соответственно $\chi^2=10,71$; $p=0,001$, рис. 8 и $N=6,13$; $p=0,01$, рис. 9; для 4й группы соответственно $\chi^2=15,11$; $p=0,001$ и $N=10,15$; $p=0,001$), а доля варианта T3 TF значимо ниже (для 2й группы — $\chi^2=15,43$; $p=0,001$, для 4й — $N=9,03$; $p=0,003$, рис. 10).

Наиболее высокое содержание СР (рис. 11) определяется у детей с сочетанной патологией ($\chi^2=4,33$; $p=0,04$) и ХЛП ($N=6,28$; $p=0,01$). Уровень α 2-MG у детей 4-й группы достоверно выше, чем в контроле ($\chi^2=13,39$; $p=0,0003$, рис. 12).

Таким образом, в период ремиссии у детей с ХГД сывороточное содержание белков острофазового ответа и характер их микрогетерогенности значимо не отличаются от соответствующих показателей в контрольной группе. У детей с ХЛП, по сравнению со здо-

ровыми, достоверно выше уровни α 2-MG, СР, процентное содержание вариантов W2 AGP и A2, A4 АСТ. Наибольшее число изменений со стороны изученных показателей в этой группе связано с уровнем и профилем гликозилирования TF. Содержание этого БОФ значительно снижено за счёт вариантов T1 и T3, а доля вариантов T2 и T4 повышена по сравнению с контролем. При сочетанной хронической патологии со стороны ЛОР и ЖКТ органов, сывороточная концентрация АСТ и СР, как и процентное содержание вариантов A5 АСТ, T2 и T4 TF, достоверно выше, а доля варианта T3 TF существенно ниже, чем в контрольной группе.

С помощью многофакторного дисперсионного анализа установлено, что ХЛП и ХГД вносят вклад в дисперсию совершенно различных показателей острофазового ответа. ХЛП достоверно влияет на сывороточное содержание α 2-MG ($F=4,03$; $p=0,046$) и соотношение всех микрогетерогенных вариантов TF (для T1 — $F=6,26$; $p=0,01$, для T2 — $F=5,67$; $p=0,02$, для T3 — $F=4,25$; $p=0,04$, для T4 — $F=6,09$; $p=0,02$).

Таблица 1
Величина изученных показателей (M±m) у детей из различных групп

Показатели	1 группа		2 группа		3 группа		4 группа	
	M	m	M	m	M	m	M	m
AGP (мг/л)	756,89	37,52	875,60	58,61	832,92	59,82	741,02	40,64
W0, %	44,47	0,78	46,46	1,20	45,04	1,23	42,74	0,84
A3, %	23,77	0,89	20,61	1,38	21,12	1,41	24,44	0,98
A5, %	3,31	0,39	5,93	0,73	4,89	0,80	3,45	0,41
HP (г/л)	0,77	0,08	0,97	0,15	0,93	0,17	0,63	0,09
T1, %	7,03	0,45	5,88	0,84	7,58	0,91	5,24	0,46
T2, %	14,01	0,57	16,88	1,07	15,01	1,17	16,41	0,59
T3, %	70,90	1,17	63,99	2,18	66,83	2,39	66,22	1,21
T4, %	8,06	0,88	13,26	1,64	10,57	1,79	12,13	0,91
α2-MG (мг/л)	4620,6	169,1	4646,4	264,1	4401,2	269,6	5283,8	183,1

Íðèìá ÷ áíèá: òàáèèòà èèþñððèðòáð ðáçóèüòàðòú, ïéó ÷ áííúá ïðè àèñíàðñèíííí àíàèèçá, ïðèáááíú ïèàçàðàèè, áèèàà á àèñíàðñèþ èíðíðúò áúè àññòáððííú.

Характер изменений острофазовых показателей отражает особенности цитокиновой регуляции в ходе иммунного ответа. Повышение уровня α2-MG и доли T2 и T4 вариантов трансферрина на фоне снижения вариантов T1 и T3 TF, установленные у детей с ХЛП (таблица 1), типичны для ответа на бактериальную инфекцию [9]. По кинетическим характеристикам эти БОФ относят ко второй группе, их уровень медленно изменяются в начале воспаления и также медленно нормализуются. Выявленные особенности острофазового ответа, вероятно, обусловлены тем, что, даже в период клинической ремиссии ХЛП, воспалительный процесс в миндалинах поддерживается бактериальной инфекцией.

Наличие ХГД достоверно влияет на уровень AGP (F=4,40, p=0,04), HP (F=3,96, p=0,05), а также на процентное содержание вариантов W0 AGP (F=4,31, p=0,04), A3 и A5 АСТ (соответственно F=7,42, p=0,007 и F=10,94, p=0,001). При ХГД повышаются уровни HP и AGP, преимущественно за счет варианта W0, и изменяется соотношение вариантов АСТ — снижается процент A3 и увеличивается A5. Одним из основных этиологических факторов воспаления в слизистой ЖКТ считается *Helicobacter pylori*. Однако, вклад повышенного титра AbHP в диспепсию

указанных показателей острофазового ответа оказался недостоверным (для всех изученных БОФ p>0,1). По данным литературы, изменения уровня таких БОФ, как AGP, АСТ и HP ассоциированы с аутоиммунными воспалительными реакциями [10]. Учитывая полученные результаты, можно предположить, что воспаление при ХГД в фазу клинической ремиссии имеет аутоиммунную природу.

Выводы

При хронических заболеваниях ЛОР-органов в стадии ремиссии воспалительный процесс характеризуется увеличением сывороточного содержания α2-макроглобулина и изменением соотношения микрогетерогенных вариантов трансферрина, что типично для воспалительных процессов инфекционной этиологии.

Хроническая гастродуоденальная патология в период ремиссии ассоциируется с увеличением уровня гаптоглобина и α1-кислого гликопротеина за счёт его микрогетерогенного варианта W0, изменением соотношения вариантов A3 и A5 антихимотрипсина. Эти особенности не связаны с *Helicobacter pylori*, а, вероятно, обусловлены аутоиммунной этиологией воспаления.

Ðàáíòà áúííèíáíá ïðè ñíááèñòáèè ÍÍ «Ááèíðñèèè Çáë, íúè Êðáñð».

Литература

1. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Часть 1. Основы общей патофизиологии. Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб; 1999: 273 — 352.
2. Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A, Rodwell V. W. Biochemia Harpera. Wydanie III. Warszawa; Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 1995: 749 — 769.

3. Novorytko J., Guzdek A. Potranslacyjna modyfikacja glikoprotein. *Post. Bioch.* 1987; Vol. 33: 65 — 67.
4. Mackiewicz A., Kushner I. Role of IL-6 in acute phase proteins glycosylation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1989; 557: 515.
5. Каумierczak М., М. Sobieska, Wiktorowicz K., Wysocki H. Changes of acute phase proteins glycosilation profile as a possible prognostic marker in miocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 1995; 49: 201 — 207.
6. Laurell C. B. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand. J. Clin. Invest.* 1972; 124: 21 — 28.
7. Big-Hansen T.C. Crossed immuno-affinoelectrophoresis: an analytical method to predict the result of affinity chromatography. *Anal. Biochem.* 1973; 56: 480 — 488.
8. Mackiewicz A, Mackiewicz S. Determination of lectin-sugar dissociation constants by agarose affinity electrophoresis. *Anal. Biochem.* 1986; 156: 481 — 488.
9. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Перевод с англ. под редакцией В.В. Меньшикова. М., Лабинформ, 1999, 960 с.
10. Schmidt M.I., Duncan B.B., Sharrett A.R. et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study: a cohort study). *Lancet.* 1999; 353: 1649 — 52.