



УДК 616.37-006.326/.327-056.7-085.281-053.2

ЛЕЖЕНКО Г.О.<sup>1</sup>, АБАТУРОВ О.Є.<sup>2</sup>, ПАШКОВА О.Є.<sup>1</sup>, ПАНТЮШЕНКО Л.І.<sup>3</sup><sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет<sup>2</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»<sup>3</sup>КУ «Запорізька обласна клінічна дитяча лікарня» ЗОР

## ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНИХ ПЕПТИДІВ У РЕАЛІЗАЦІЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО ЗАХИСТУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА МУКОВІСЦИДОЗ

**Резюме.** Обстежено 37 дітей, хворих на муковісцидоз, віком від 3 до 15 років. Контрольну групу становили 30 здорових дітей. Встановлено, що дітям, хворим на муковісцидоз, притаманне підвищення вмісту в плазмі крові  $\alpha$ -дефензинів 1–3, продукція яких адаптивно підвищувалася у відповідь на контамінацію дихальних шляхів *Ps.aeruginosa*. Високі концентрації дефензинів пригнічували фагоцитарну активність нейтрофілів, унаслідок чого компенсаторно-адаптаційна реакція, спрямована на подолання контамінації патогену, набувала характеру патологічної і виступала додатковим фактором ураження дихальної системи. Інфікування хворих на муковісцидоз *Ps.aeruginosa* приводило до порушення перебігу другої фази запалення за рахунок відсутності адекватної активації iNOS. У відповідь на зниження генерації оксиду азоту у дітей, хворих на муковісцидоз, інфікованих *Ps.aeruginosa*, відбувалося підвищення рівня NTproBNP у сироватці крові, що є компенсаторною реакцією і може виступати додатковим фактором підтримки хронічного запалення та ураження дихальної системи.

**Ключові слова:** муковісцидоз,  $\alpha$ -дефензини 1–3, оксид азоту, iNOS NTproBNP, *Ps.aeruginosa*.

Муковісцидоз — найбільш часте спадкове захворювання бронхолегеневої системи, що має велику медико-соціальну значимість у ряді розвинених країн, включаючи Україну. В останні роки відзначається зростання числа хворих із цією патологією, частота якої серед представників білої раси коливається від 1 : 600 до 1 : 12 000 новонароджених [11, 12]. При муковісцидозі ушкоджуються всі життєво важливі органи і системи, але тяжкість перебігу та прогноз захворювання у 90–95 % хворих визначають наявність хронічної інфекції та запалення дихальних шляхів [7, 13]. Акумуляція в бронхах в'язкого слизу і порушення мукоциліарного кліренсу сприяють розвитку та прогресуванню інфекційного процесу в дихальних шляхах [13].

Основну роль в етіології інфекційного процесу в бронхах, що ускладнює перебіг муковісцидозу, відіграють *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* та *Pseudomonas aeruginosa*. Наявність *Ps.aeruginosa* та спричинений нею запальний процес, боротьба з яким є досить складною проблемою у зв'язку з її резистентністю до фагоцитозу і до більшості антибактеріальних засобів, є прогностично несприятливою ознакою для пацієнта з муковісцидозом [10].

Поширеність хронічної інфекції *Ps.aeruginosa* при муковісцидозі за даними літератури становить від 25,8 до 48,9 % [15, 20]. Причини гіперчутливості хворих на муковісцидоз до цієї бактерії недостатньо вивчені. У деяких дослідженнях показано роль рецепторів дихального епітелію для *Ps.aeruginosa* як основа гіперчутливості хворих на муковісцидоз до хронічної інфекції [10]. Характерною рисою *Ps.aeruginosa* є гіпермутабельність, яка надзвичайно покращує її адаптацію до легеневого середовища та полегшує хронізацію процесу, що істотно погіршує функцію легенів [7]. Згідно з сучасною етіопатогенетичною концепцією, ураження легень при муковісцидозі в ушкодження легеневої тканини значний внесок робить надмірна імунна відповідь організму, а не тільки і не стільки пряма шкідлива дія мікробних агентів. Колонізація дихальних шляхів *Ps.aeruginosa* викликає виражену запальну відповідь, що супроводжується вивільненням великої кількості цитокінів, окси-

© Леженко Г.О., Абатуров О.Є., Пашкова О.Є., Пантюшенко Л.І., 2013

© «Здоров'я дитини», 2013

© Заславський О.Ю., 2013

дантів, ензимів (протеази й еластази), які сприяють формуванню порочного кола запалення, що призводить у підсумку до пошкодження легеневої тканини [7].

**Мета дослідження:** дослідити фактори, що сприяють колонізації респіраторного тракту *Ps.aeruginosa* у дітей, хворих на муковісцидоз.

## Матеріали та методи дослідження

Під нашим спостереженням знаходилося 37 дітей, хворих на муковісцидоз із панкреатичною недостатністю, віком від 3 до 15 років (середній вік становив  $9,8 \pm 0,5$  року). Обов'язковий комплекс обстеження включав рентгенографію органів грудної клітки, дослідження загального аналізу крові, загального аналізу сечі, бактеріологічне дослідження харкотиння з визначенням чутливості до антибіотиків. Контрольну групу становили 30 здорових дітей, репрезентативних за віком та статтю.

Вміст протимікробних пептидів —  $\alpha$ -дефензинів 1–3 (Human Neutrophil Peptides 1–3, HNP 1–3) у сироватці крові досліджували методом імуноферментного аналізу з використанням комерційного набору HNP 1–3 (ELISA, Bio Tech Lab-S). Дослідження рівня С-реактивного білка (СРБ) проводилося з використанням комерційного набору CRP (Elisa, DRG).

Визначення метаболітів оксиду азоту в крові проводили спектрофотометричним методом із попередньою депротейнізацією сироватки й відновленням  $\text{NO}_3$  до  $\text{NO}_2$  [6]. Рівень іNOS визначали спектрофотометричним методом. Вміст NTproBNP вивчався методом ІФА з використанням тест-наборів Biomedica (Австрія).

Отримані результати опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням пакета аналізу програми Statistica for Windows 6.0 з обчисленням середнього арифметичного (M), середнього квадратичного відхилення ( $\sigma$ ) і середніх помилок (m), коефіцієнта варіації (Cv), коефіцієнта парної лінійної кореляції Пірсона (r). Для оцінки відмінностей показників у порівнюваних групах використовувався t-критерій Стьюдента. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

## Результати дослідження та їх обговорення

За результатами проведеного бактеріологічного дослідження харкотиння патогенну мікрофлору було виділено у 22 (59,4 %) хворих. Було встановлено, що домінуючою мікрофлорою виступала *Ps.aeruginosa*, що зустрічалася у 14 (37,8 %) пацієнтів. Слід відмітити, що монокультуру *Ps.aeruginosa* було виділено у 4 (10,8 %) обстежених, а у 10 (27,0 %) було виявлено мікст-інфікування дихальних шляхів, тобто *Ps.aeruginosa* в сполученні з *H.influenzae* або *S.aureus*. Інші збудники зустрічалися з такою частотою: *H.haemolyticus* — у 3 (8,1 %) хворих, *S.aureus* у монокультурі виділявся в 1 (2,7 %) пацієнта, *H.influenzae* — в 1 (2,7 %) хворо-

го. У 3 (8,1 %) дітей було виявлено мікробну асоціацію *H.influenzae* із *S.aureus*. Крім того, у 3 (8,1 %) пацієнтів встановлено наявність грибово-бактеріальної асоціації. Таким чином, у дітей, хворих на муковісцидоз, характерною рисою виступала колонізація дихальних шляхів *Ps.aeruginosa*.

Беручи до уваги дані літератури, що свідчили про значну роль у формуванні антибактеріального захисту антимікробних пептидів, у тому числі  $\alpha$ -дефензинів [30], ми дослідили вміст  $\alpha$ -дефензинів 1–3 в сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз (табл. 1). За результатами проведеного дослідження було встановлено, що хворим на муковісцидоз притаманний надзвичайно високий рівень  $\alpha$ -дефензинів 1–3 в сироватці крові, що в 3,9 раза перевищував показники контрольної групи. У сучасній літературі висловлюється думка про те, що високий рівень дефензинів у сироватці крові може служити маркером тяжкості перебігу захворювання та наявності легеневої дисфункції [23].

Маючи на увазі той факт, що колонізація нижніх дихальних шляхів *Ps.aeruginosa* значно погіршує перебіг муковісцидозу у дітей, ми проаналізували вміст у сироватці крові  $\alpha$ -дефензинів 1–3 з урахуванням стану мікробіоценозу дихальних шляхів, тобто за наявності (перша група) або відсутності (друга група) *Ps.aeruginosa* (табл. 2). Проведений аналіз показав, що у дітей обох груп рівень  $\alpha$ -дефензинів 1–3 в сироватці крові вірогідно перевищував показники, отримані в контролі. На цьому тлі ми звернули увагу на той факт, що наявність *Ps.aeruginosa* супроводжувалася високим рівнем концентрації  $\alpha$ -дефензинів 1–3 у сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, у 6,8 раза ( $p < 0,001$ ).

Поряд із дефензинами одним із найчутливіших та ранніх індикаторів запалення, викликаного бактеріальними інфекціями, виступає С-реактивний білок [25]. Основна біологічна функція СРБ, як і всіх білків гострої фази, — знищення збудників у вогнищах ураження та відновлення функціональних і структурних порушень [4]. У той же час згідно з численними проспективними дослідженнями, підвищення рівня СРБ у поєднанні з високим вмістом  $\alpha$ -дефензинів маркером розвитку ендотеліальної дисфункції [5, 21].

За результатами дослідження вмісту СРБ у сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз (табл. 1), було встановлено, що їм притаманне триразове зростання рівня означеного пептиду в сироватці крові,  $p < 0,01$ . Проведений додатково аналіз вмісту СРБ, із урахуванням особливостей колонізації дихальних шляхів, тобто за наявності (перша група) або відсутності (друга група) *Ps.aeruginosa* (табл. 2) показав, що надзвичайно високе ( $p < 0,001$ ) значення СРБ зафіксовано за наявності *Ps.aeruginosa*, у той час як у дітей другої групи рівень СРБ у сироватці крові залишався в межах контрольних показників ( $p > 0,02$ ).

Отримані результати виглядають логічними, якщо взяти до уваги літературні дані, які вказували, що патогенна дія *Ps.aeruginosa* зумовлена вивільненням ендотоксинів та хемоатрактантів при загибелі та розпаді бактеріальної клітини. Високий рівень хемоатрактантів і прозапальних цитокінів у дихальних шляхах при муковісцидозі сприяє накопиченню активованих нейтрофілів, які гинуть, звільняючи ДНК і волокнистий актин, що призводить до збільшення в'язкості харкотиння та зниження антибактеріальної активності антимікробних пептидів. Таким чином, виявлене різке зростання рівня  $\alpha$ -дефензинів 1–3 виступало компенсаторно-адаптаційною реакцією, спрямованою на подолання контамінації патогену [17, 18]. Разом із тим на сучасному етапі доведено, що високі рівні  $\alpha$ -дефензинів індукують вивільнення інтерлейкіну-8 та нейтрофіл-активуючого білка 78 із епітеліальних клітин дихальних шляхів, що призводить до додаткової міграції поліморфноядерних лейкоцитів у вогнище запалення [2, 27]. Надлишкова акумуляція нейтрофілів в паренхімі легень та капілярах, у свою чергу, сприяє формуванню локального «протеазного вибуху» з ушкодженням компонентів сурфактанту, базальної мембрани альвеол, ендотеліоцитів. Крім того,  $\alpha$ -дефензини 1–3 у високій концентрації підвищують проникність мікроциркуляторного русла як прямо, так і шляхом стимуляції дегрануляції тучних клітин. [2, 8, 24]. Тобто за таких умов компенсаторно-адаптаційна реакція, спрямована на подолання контамінації патогену, набуває характеру патологічної і виступає додатковим фактором ураження дихальної системи.

Необхідно відзначити, що високі концентрації дефензинів інгібують фагоцитарну активність нейтрофілів. Застосування  $\text{Ca}^{2+}$ -блокаторів або  $\alpha 1$ -інгібітору протеїназ запобігає розвитку дефензин-індукованої фагоцитарної недостатності [19, 29]. Таким чином, у хворих на муковісцидоз відзначається різко підвищена продукція дефензинів, що, цілком імовірно, індукована бактеріальними агентами. Однак дана суперпродукція дефензинів обумовлює інгібування фагоцитозу поліморфноядерними лейкоцитами, що призводить до виникнення некурабельних або малокурабельних форм перебігу інфекційного процесу респіраторного тракту, викликаному *Ps.aeruginosa*. Розробка медикаментозних методів, спрямованих на запобігання інгібуючій фагоцитоз дії дефензинів, може відкрити нові напрямки лікування хворих із муковісцидозом.

Відомо, що оксид азоту виступає фактором, який бере участь в антимікробному захисті мікроорганізму. Дія оксиду азоту спричиняє загибель багатьох типів мікроорганізмів або зупиняє їх ріст та розмноження, за що її назвали караючим мечем імунної системи. У реалізації цієї системи виділено два феномени — апоптотичну загибель

клітин-носіїв та створення несприятливих умов для розмноження мікроорганізмів і виділення токсичних для патогену субстанцій. В основі антимікробної дії NO лежить здатність реактивних проміжних продуктів оксиду азоту викликати нітрозилування та дезамінування білків, окислювальне ураження та порушення системи репарації ДНК. Крім прямої антимікробної дії NO бере участь у механізмах запалення. Розвиток означеного процесу має двофазний характер, при цьому кожна фаза асоційована з певними лізоформами NO-синтази. У ранню фазу відбувається стимуляція продукції оксиду азоту за допомогою нейрональної NO-синтази. Паралельно відбувається посилення продукції NO за рахунок ендотеліальної ізоформи NOS. Відбувається релаксація судин та їх посилення проникності. Пізня фаза запалення пов'язана з локальною лейкоцитарною активністю та інфільтрацією. До її розвитку робить внесок лише NO, який продукується за допомогою iNOS, що локалізована в лейкоцитах [14].

У зв'язку з вищенаведеним нами досліджено вміст метаболітів оксиду азоту в сироватці крові у дітей, хворих на муковісцидоз. Відомо, що у фізіологічних умовах переважає вивільнення факторів розслаблення, до яких належить оксид азоту [3]. Проведене оцінювання одержаних даних (табл. 1) показало, що в пацієнтів із муковісцидозом мало місце вірогідне ( $p < 0,05$ ) зниження генерації оксиду азоту, яке не залежало від мікробного пейзажу дихальних шляхів (табл. 2). Одержані дані можуть виступати свідченням декількох процесів, що паралельно відбувалися в дітей із групи спостереження. Тобто, з одного боку, спостерігалася погіршення рівня антимікробного захисту, з іншого — вочевидь формувалися умови розвитку ендотеліальної дисфункції. Слід зазначити, що наявність в мікробіоті дихальних шляхів *Ps.aeruginosa* сприяла порушенню адекватного перебігу другої фази запалення за рахунок відсутності адекватної активації iNOS (табл. 2) і, як наслідок, зменшення продукції ендотеліального оксиду азоту. На цьому тлі у дітей другої групи рівень iNOS удвічі перевищував показники контрольної групи.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення вмісту в сироватці крові натрійуретичного пептиду (NTproBNP) — гормону, біологічна дія якого багатогранна і реалізується, у тому числі, за рахунок вивільнення оксиду азоту [1, 26]. Натрійуретичний пептид поряд із антимікробними пептидами виявляє активність щодо грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також дріжджів [9, 22]. У той же час згідно з експериментальними дослідженнями W. Veron et al. (2007), *Ps.aeruginosa* має на своїй поверхні нуклеотидзалежну BNP-сенсорну систему, унаслідок чого при взаємодії натрійуретичного пептиду з мікроорганізмом активується синтез бактери-

**Таблиця 1. Вміст деяких біологічно активних речовин у сироватці крові дітей, які перебували під спостереженням (M ± t)**

Показник	Хворі на муковісцидоз, n = 37	Контрольна група, n = 30
α-дефензини, пг/мл	14286,4 ± 3236,1**	3583,3 ± 735,4
СРБ, мкг/мл	0,07 ± 0,02**	0,02 ± 0,005
NTproBNP, фмоль/л	315,7 ± 27,8	240,0 ± 8,8
Метаболіти оксиду азоту, мкмоль/л	6,42 ± 0,54*	9,63 ± 0,72
iNOS, нмоль/мг білка/хв	0,60 ± 0,09*	0,37 ± 0,05

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою; \*\* –  $p < 0,001$  порівняно з контрольною групою.

**Таблиця 2. Вміст деяких біологічно активних речовин у сироватці крові дітей, які перебували під спостереженням, із урахуванням стану мікробіоценозу дихальних шляхів (M ± t)**

Показник	Хворі на муковісцидоз, n = 37		Контрольна група, n = 30
	Перша група, n = 14	Друга група, n = 23	
α-дефензини, пг/мл	*24250,0 ± 7833,2**	8592,4 ± 920,1*	3583,3 ± 735,4
СРБ, мг/л	*0,12 ± 0,03**	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,005
NTproBNP, фмоль/л	*406,25 ± 50,83*	239,4 ± 13,3	240,0 ± 8,8
Метаболіти оксиду азоту, мкмоль/л	5,48 ± 0,36*	6,0 ± 0,56*	9,63 ± 0,72
iNOS, нмоль/мг білка/хв	*0,37 ± 0,05	0,79 ± 0,17*	0,37 ± 0,05

Примітки: ...\* –  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою; ...\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з контрольною групою; \*... –  $p < 0,05$  порівняно з групою хворих на муковісцидоз без *Ps.aeruginosa*.

альної цАМФ та ліпополісахаридів. Даний процес призводить до посилення продукції факторів вірулентності *Ps.aeruginosa* і більш агресивного ушкодження клітин макроорганізму [28], за рахунок чого формується безперервний цикл запалення, що призводить до перебудови легеневої тканини та суттєво погіршує перебіг бронхолегеневого процесу.

Аналіз вмісту NTproBNP у сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, показав, що його рівень вірогідно ( $p < 0,05$ ) перевищував показники контрольної групи. Разом із тим ми звернули увагу на результати індивідуального аналізу, спрямованого на визначення вмісту пептиду в основній групі дітей. Вміст NTproBNP у сироватці крові дітей означеної групи коливався в широкому діапазоні — від 180 до 800 фмоль/л, а коефіцієнт варіації (Сv) показника, що вивчався, становив 36,5 %, тобто група була неоднорідна. У зв'язку з цим ми дослідили вміст NTproBNP у сироватці крові залежно від наявності інфікування *Ps.aeruginosa* (табл. 2).

За результатами проведеного аналізу встановлено, що колонізація нижніх дихальних шляхів *Ps.auregenosa* супроводжувалася підвищенням рівня натрійуретичного пептиду в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). У той же час у групі пацієнтів, у яких було відсутнє інфікування *Ps.aeruginosa*, вміст NTproBNP не перевищував показники контрольної групи ( $p > 0,05$ ). Таким чином, рівень NTproBNP у сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз та інфікованих *Ps.aeruginosa*, є компенсаторною реакцією у відповідь на розвиток вазоконстрикції

на тлі ендотеліальної дисфункції і відзеркалює розвиток серцево-судинних порушень із іншого боку, базуючись на вищенаведених даних [28], неможливо категорично відкидати той факт, що підвищення рівня NTproBNP сприяє погіршенню перебігу хронічного бронхолегеневого процесу за рахунок стимуляції агресії *Ps.aeruginosa*.

На підставі отриманих даних ми припускаємо, що процес елімінації інфекційних агентів у хворих на муковісцидоз супроводжується коактивацією таких неспецифічних механізмів, які в умовах нормального функціонування трансмембранного регулюючого протеїну муковісцидозу не беруть участі в захисті респіраторного тракту від інфекційних агентів. Разом із тим індукція даних механізмів, зокрема посилення продукції NTproBNP, може стати патогенетичним фактором, що визначає розвиток легеневої гіпертензії у хворих на муковісцидоз. На нашу думку, визначення рівня концентрації в сироватці крові метаболітів оксиду азоту і NTproBNP дасть можливість оцінити індивідуальний ризик розвитку легеневої гіпертензії у хворих на муковісцидоз [16]. Необхідні подальші дослідження, спрямовані на визначення конкретного прогностичного внеску зменшення продукції ендотеліального оксиду азоту і зростання синтезу та вивільнення NTproBNP, щодо вірогідності розвитку легеневої гіпертензії у хворих на муковісцидоз.

## Висновки

1. Дітям, хворим на муковісцидоз, притаманне підвищення вмісту в плазмі крові α-дефензинів

1–3. Продукція HNP 1–3 адаптивно підвищувалася у відповідь на контамінацію дихальних шляхів *Ps.aeruginosa*, однак високі концентрації дефензинів пригнічували фагоцитарну активність нейтрофілів. За таких умов компенсаторно-адаптаційна реакція, спрямована на подолання контамінації патогену, набувала характеру патологічної і виступала додатковим фактором ураження дихальної системи.

2. У хворих на муковісцидоз відбувалося зниження генерації оксиду азоту, що не залежало від мікробного пейзажу дихальних шляхів. Наявність у мікробіоті дихальних шляхів *Ps.aeruginosa* сприяла порушенню адекватного перебігу другої фази запалення за рахунок відсутності адекватної активності iNOS.

3. Підвищення рівня NTproBNP у сироватці крові дітей, хворих на муковісцидоз, ускладнений *Ps.aeruginosa*, є компенсаторною реакцією у відповідь на зниження генерації оксиду азоту, і не виключено, що воно виступає додатковим фактором підтримки хронічного запалення та ураження дихальної системи.

## Список літератури

1. Абрагамович О.О. Механізми розвитку дисфункції ендотелію та її роль у патогенезі ішемічної хвороби серця / О.О. Абрагамович, А.Ф. Файник, О.В. Нечай [та ін.] // Укр. кардіол. журн. — 2007. — № 4. — С. 81-87.
2. Будихина А.С. Дефензини — мультифункціональні катіонні пептиди людини / А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — № 2. — С. 31-40.
3. Билецкий С.В. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно-сосудистой системы / С.В. Билецкий, С.С. Билецкий // Внутренняя медицина. — 2008. — № 2(8).
4. Вельков В.В. С-реактивный белок в лабораторній діагностиці гострого запалення і оцінці ризику судинної патології / В.В. Вельков // Лабораторна діагностика. — 2007. — № 4(42). — С. 53-68.
5. Глушко Л.В. С-реактивный белок: діагностичні та прогностичні перспективи визначення в плазмі/сироватці крові і інших біологічних рідинах організму / Л.В. Глушко, Н.М. Коваль, Н.М. Павелко // Здоровье Украины. — 2010. — № 7. — С. 58-61.
6. Голиков П.П. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева // Биомедицинская химия. — 2004. — Т. 50, № 1. — С. 79-85.
7. Капранов Н.И. Муковисцидоз: современные аспекты диагностики и лечения / Н.И. Капранов, А.М. Радионович, Н.Ю. Каширская, В.Д. Толстова // Клиницист. — 2006. — № 4. — С. 42-51.
8. Кокряков В.Н. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета / В.Н. Кокряков [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2006. — № 2. — С. 98-105.
9. Конев Ю.В. Системная эндотоксемия и клиничко-патогенетические особенности течения атеросклероза и ишемической болезни сердца в пожилом и старческом возрасте / Ю.В. Конев: Автореф. дис... д-ра мед. наук. — М., 1997. — 43 с.
10. Кронина Л. Роль мутантного *cfr* в гиперчувствительности больных муковисцидозом к легочным инфекциям / Л. Кронина // РМЖ. — 1996. — № 9 // www.rmj.ru
11. Максимова С.М. Трудности и новые возможности в диагностике муковисцидоза у детей / С.М. Максимова, И.Г. Самойленко, Т.В. Ленарт [и др.] // Здоровье ребенка. — 2012. — № 5. — С. 80-84.

12. Пульмонология. Приложение. ГУ «Медикогенетический научный центр РАМН» (Российский центр муковисцидоза). — 2006. — С. 5-124.

13. Ранняя терапия и профилактика поражения легких при муковисцидозе: Европейский консенсус // J. Syst. Fibros. — 2004. — Vol. 3(2). — P. 67-91.

14. Сомова Л.М. Оксид азота как медиатор воспаления / Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова // Вестник ДВО РАН. — 2006. — № 2. — С. 77-80.

15. Феклин В.А. Микробный пейзаж дыхательных путей при муковисцидозе у детей, В.А. Феклин, В.П. Кандыба, Е.Г. Колиушко [и др.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. — 2009. — № 13(1/2). — С. 342.

16. Ben Tov A. N-terminal pro B-type natriuretic peptide (N-BNP) levels in cystic fibrosis patients / A. Ben Tov, G. Paret, B.A. Sela [et al.] // Pediatr. Pulmonol. — 2007. — Vol. 42, № 8. — P. 699-703.

17. Brandt T. DNA concentration and length in sputum of patients with cystic fibrosis during inhalation with recombinant human DNase / T. Brandt, S. Breitenstein, H. von der Hardt, B. Tummler // Thorax. — 1995. — Vol. 50. — P. 880-882.

18. Daniel J. Weiner, Robert Bucki and Paul A. Janney. The Antimicrobial Activity of the Cathelicidin LL37 Is Inhibited by F-actin Bundles and Restored by Gelsolin // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. — 2003 June. — Vol. 28, № 6. — 738-745.

19. Hayes E. The cystic fibrosis neutrophil: a specialized yet potentially defective cell / E. Hayes, K. Pohl, N.G. McElvaney, E.P. Reeves // Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz). — 2011. — Vol. 59, № 2. — P. 97-112.

20. Knudsen P.K. Differences in prevalence and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis centres in Denmark, Norway and Sweden / P.K. Knudsen, H.V. Olesen, N. Hiniby [et al.] // Journal of Cystic Fibrosis. — 2009. — 8. — 135-142.

21. Kougias P. Neutrophil antimicrobial peptide alpha-defensin causes endothelial dysfunction in porcine coronary arteries / P. Kougias, H. Chai, P.H. Lin [et al.] // J. Vasc. Surg. — 2006. — Vol. 43(2). — P. 357-363.

22. Krause A. Human natriuretic peptides exhibit antimicrobial activity / A. Krause, C. Liepke, M. Meyer [et al.] // Eur. J. Med. Res. — 2001. — Vol. 6(5). — P. 215-218.

23. Mukae H. Raised plasma concentrations of  $\alpha$ -defensins in patients with idiopathic pulmonary fibrosis / H. Mukae, H. Iiboshi, M. Nakazato [et al.] // Thorax. — 2002. — Vol. 57. — P. 623-628.

24. Schneider J.J. Human defensins / J.J. Schneider [et al.] // J. Mol. Med. — 2005. — Vol. 83, № 8. — P. 587-595.

25. Tsimogiannis K.E. A-defensin expression of inflammatory response in open and laparoscopic colectomy for colorectal cancer / Tsimogiannis K.E., Telis K., Tselepis A [et al.] // World J. Surg. — 2011 Aug. — 35(8). — 1911-7.

26. Van der Zander K. / Van der Zander K., Houben A.J., Kroon A.A. Nitric oxide and potassium channels are involved in brain natriuretic peptide induced vasodilatation in man // J. Hypertens. — 2002 Mar. — 20(3). — 493-9.

27. Van Wetering, S., Mannede-Lazeroms S.P.G., Van Sterkenburg M.A.J.A., Hiemstra P.S. Neutrophil defensins stimulate the release of cytokines by airway epithelial cells: modulation by dexamethasone // Inflamm. Res. — 2002. — 51. — 8-15.

28. Veron W. Natriuretic peptides affect *Pseudomonas aeruginosa* and specifically modify lipopolysaccharide biosynthesis / W. Veron, O. Lesouhaitier, X. Pennaneec [et al.] // Eebs J. — 2007. — Vol. 274 (22). — P. 5852-5864.

29. Voglis S. Human neutrophil peptides and phagocytic deficiency in bronchiectatic lungs / S. Voglis, K. Quinn, E. Tullis, [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2009. — Vol. 180, № 2. — P. 159-166.

30. Yount N.Y. Immunoconsilium: Perspectives in Antimicrobial. Peptide Mechanisms of Action and Resistance. Protein and Peptide / N.Y. Yount, M.R. Yeaman // Letters. — 2005. — P. 49-67.

Отримано 12.04.13 □

Леженко Г.А.<sup>1</sup>, Абатуров А.Е.<sup>2</sup>, Пашкова Е.Е.<sup>1</sup>, Пантюшенко Л.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Запорожский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

<sup>3</sup>КУ «Запорожская областная клиническая детская больница» ЗОС

### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В РЕАЛИЗАЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

**Резюме.** Обследовано 37 детей, больных муковисцидозом, в возрасте от 3 до 15 лет. Контрольную группу составили 30 здоровых детей. Установлено, что детям с муковисцидозом присуще повышение содержания в плазме крови  $\alpha$ -дефензинов 1–3, продукция которых адаптивно повышалась в ответ на контаминацию дыхательных путей *Ps.aeruginosa*. Высокие концентрации дефензинов угнетали фагоцитарную активность нейтрофилов, вследствие чего компенсаторно-адаптационная реакция, направленная на преодоление контаминации патогена, принимала характер патологической и являлась дополнительным фактором по-

ражения дыхательной системы. Инфицирование больных муковисцидозом *Ps.aeruginosa* приводило к нарушению течения второй фазы воспаления за счет отсутствия адекватной активации iNOS. В ответ на снижение генерации оксида азота у детей с муковисцидозом, инфицированных *Ps.aeruginosa*, происходило повышение уровня NTproBNP в сыворотке крови, что является компенсаторной реакцией и может быть дополнительным фактором поддержания хронического воспаления и поражения дыхательной системы.

**Ключевые слова:** муковисцидоз,  $\alpha$ -дефензины 1–3, оксид азота, iNOS NTproBNP, *Ps.aeruginosa*.

Lezhenko G.O.<sup>1</sup>, Abaturov O.Ye.<sup>2</sup>, Pashkova O.Ye.<sup>1</sup>, Pantyushenko L.I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zaporizhya State Medical University

<sup>2</sup>State Institution «Dnipropetrovsk State Medical Academy of Ministry of Public Health of Ukraine», Dnipropetrovsk

<sup>3</sup>Municipal Institution «Zaporizhya Regional Clinical Children's Hospital at Zaporizhya Regional Council», Zaporizhya, Ukraine

### PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN THE IMPLEMENTATION OF ANTIBACTERIAL PROTECTION IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS

**Objective:** to investigate the factors increasing the colonization of respiratory system with *Ps.aeruginosa* in children with cystic fibrosis.

**Materials and methods.** The study involved 37 children with cystic fibrosis at the age from 3 to 15 years. The control group consisted of 30 healthy children. The results of the bacteriological examination of sputum were evaluated. The plasma levels of  $\alpha$ -defensins 1–3 (HNP 1–3), serum levels of C-reactive protein (CRP), metabolites of nitric oxide (NO), inducible NO-synthase (iNOS), NTproBNP were investigated.

**Results.** According to the results of bacteriological examination of sputum pathogens was identified in 22 (59.4 %) patients. The dominant microorganisms were presented by *Ps.aeruginosa* in 14 (37.8 %) patients. Patients with cystic fibrosis have had 3.9 times increased levels of HNP 1–3 in plasma in comparison with control group ( $p < 0.05$ ). The presence of *Ps.aeruginosa* led to the 6.8 times increase of HNP 1–3 in plasma of children with cystic fibrosis ( $p < 0.001$ ). Simultaneously, the presence of *Ps.aeruginosa* resulted in an increase of CRP ( $p < 0.01$ ). Contamination of the patients with cystic fibrosis by *Ps.aeruginosa* contributed to lack of NO and iNOS production. Colonization of the lower respiratory tract by *Ps.aeruginosa* associated with

1.7 times increased levels of NTproBNP in comparison with control group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** 1. Children with cystic fibrosis had been characterized by elevation of plasma level of  $\alpha$ -defensins 1–3. Production of HNP 1–3 adaptively increased in response to the contamination of the respiratory tract by *Ps.aeruginosa*, but high concentration of  $\alpha$ -defensins 1–3 depressed phagocytic activity of neutrophils. Under such conditions compensatory-adaptive response, that was intended at the overcoming of pathogenic contamination, take a turn of pathologic and was an additional factor of respiratory system affection.

2. In children with cystic fibrosis reduction of generation of nitric oxide regardless of the microbial status of respiratory system took place. Availability of *Ps.aeruginosa* in respiratory system microbiota assisted to the adequate course of the second phase of inflammation at the expense of absence of iNOS adequate activation.

3. Increased serum level of NTproBNP in children with cystic fibrosis, infected with *Ps.aeruginosa*, is a compensatory reaction in response to the activation of endothelin-1 synthesis and serves as additional factor of supporting of chronic inflammation and damage of the respiratory system.

**Key words:** cystic fibrosis, defensins 1–3, nitric oxide, iNOS NTproBNP, *Ps.aeruginosa*.