

BARBARA BASIEWICZ-WORSZTYNOWICZ¹, WIESŁAWA KARNAS-KALEMBA¹,
DARIA AUGUSTYNIAK², BOŻENA POLAŃSKA¹, ADAM JANKOWSKI¹

Ocena przydatności oznaczania chemokin RANTES i MIP-1 α oraz elastazy w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci*

The Usefulness of Chemokines RANTES and MIP-1 α and Elastase in Diagnostic Process of Respiratory Tract Infections in Children

¹ Katedra Propedeutyki Pediatrii i Klinika Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego AM we Wrocławiu

² Pracownia Immunologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego

Streszczenie

Wprowadzenie. Zapalenie spowodowane przez czynnik zakaźny wywołuje wiele reakcji immunologicznych i alergicznych. W procesach tych biorą udział chemokiny, które regulują napływ komórek do miejsca zapalenia.

Cel pracy. Ocena przydatności chemokin RANTES i MIP-1 α oraz EN- α_1 IP w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci.

Materiał i metody. Badaniem objęto 29 dzieci hospitalizowanych z powodu zapalenia płuc lub oskrzeli. Wyodrębniono dwie grupy: I – 15 dzieci z towarzyszącym ropnym zakażeniem górnych dróg oddechowych, II – 14 pacjentów, u których wyniki badań i obserwacja kliniczna sugerowały wirusowe tło zachorowania oraz grupę kontrolną (16 zdrowych dzieci). Surowicze stężenie chemokin oraz EN- α_1 IP w osoczu, przed i po leczeniu, oznaczano metodą ELISA.

Wyniki. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic średnich wartości stężeń RANTES w surowicy między grupą I i II. Średnie stężenie MIP-1 α w surowicy w grupie I było istotnie wyższe na początku choroby w porównaniu z wartością zarówno po zakończeniu leczenia ($p < 0,02$), jak i z grupą kontrolną ($p < 0,000001$). W grupie II nie stwierdzono istotnych różnic średnich wartości stężeń MIP-1 α . Wykazano, że w surowicy pacjentów z I grupy średnie wartości stężeń MIP-1 α różniły się w sposób istotny w porównaniu ze stężeniami w grupie II ($p < 0,00005$) w ostrej fazie choroby i po zakończeniu leczenia ($p < 0,01$). W ostrej fazie średnie stężenie EN- α_1 IP u pacjentów z grupy I było istotnie wyższe niż po leczeniu ($p < 0,05$) i w grupie kontrolnej ($p < 0,05$). W II grupie stężenie EN- α_1 IP w osoczu było wyższe niż po leczeniu ($p < 0,005$) i grupie kontrolnej ($p < 0,006$).

Wnioski. Wstępne wyniki badań wskazują na znamienny wzrost chemokiny MIP-1 α w surowicy, w zakażeniach ropnych dróg oddechowych u dzieci, nie obserwowano natomiast różnic w stężeniu RANTES. EN- α_1 IP jest dobrym miernikiem do oceny dynamiki zakażenia. Oznaczanie MIP-1 α w surowicy i EN- α_1 IP w osoczu może być pomocne w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 3, 523–529).

Słowa kluczowe: RANTES, MIP-1 α , EN- α_1 IP, zakażenie dróg oddechowych, dzieci.

Abstract

Background. Chemokines regulated trafficking and effector functions of immune cells and the response to infection during inflammation. The chemoattractant of neutrophils is human leukocyte elastase.

Objectives. To identify the possibility to use in diagnostic process of children suffering from respiratory tract infections: chemokines RANTES, MIP-1 α and EN- α_1 IP.

Material and Methods. The examinations were performed in 29 children (in patients) suffering from pneumonia or bronchitis. Two subgroups were identified: I group consisted of 15 children with diagnosis of pneumonia or bronchitis with upper respiratory tract bacterial infection, II group consisted of 14 children with viral infection and a control group (16 healthy children). ELISA using carried out the measurement of chemokine concentrations in serum and EN- α_1 IP in plasma.

* Badania finansowane były przez Akademię Medyczną we Wrocławiu (No 139/2000). Badania były prowadzone za zgodą Komisji Bioetycznej AM.

Results. There were no differences of chemokine RANTES serum levels between II group and I. For I group the serum concentrations of MIP-1 α were significantly higher in the acute phase than in convalescent phase ($p < 0.02$) and than in the control group ($p < 0.000001$). The result of measurement and statistical analysis for the serum levels of MIP-1 α in II group show any differences in acute and convalescent phase. Recent study has also shown significantly increased of serum MIP-1 α levels in I group as compared to II group in acute ($p < 0.00005$) and in convalescence phase ($p < 0.01$). EN- α_1 IP plasma levels were significantly higher in acute phase in I group as compared to convalescence phase ($p < 0.05$) and to control group ($p < 0.05$). In the II group it was $p < 0.005$ and $p < 0.006$ correspondingly.

Conclusions. Our preliminary results demonstrated significantly higher levels of MIP-1 α , but not RANTES, in sera of children of bacterial than of viral infections. EN- α_1 IP is a new marker of estimation of dynamic of infection. Our results suggest that measurement of MIP-1 α serum levels and EN- α_1 IP plasma levels could be useful in diagnosis of respiratory tract infections in period of disease in children (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 3, 523–529).

Key words: RANTES, MIP-1 α , EN- α_1 IP, infections, children.

Znajomość mechanizmów zapalenia umożliwia skuteczne i szybkie zwalczanie czynników chorobotwórczych oraz umożliwia zapobieganie następstwom zakażenia. Wiadomo, że wywołany przez drobnoustroje w miejscu zakażenia proces zapalny jest spowodowany zwiększonym napływem krwi, wzrostem przepuszczalności naczyń i gromadzeniem się komórek biorących udział w mechanizmach obronnych. Odczyn zapalny jest procesem złożonym, w którym liczne czynniki humoralne i komórkowe wywołują wiele reakcji immunologicznych i prowadzą do uszkodzenia tkanek. Do mediatorów zapalenia należą między innymi cytokiny, a wśród nich chemokiny, regulujące napływ komórek do miejsca zapalenia. Chemokiny to grupa białek o małej masie cząsteczkowej (8–10 kDa), których udział w zapaleniu został udowodniony. Najlepiej dotychczas opisana chemokina RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted*), należąca do grupy C – C chemokin, ma istotne znaczenie rozwoju zapalenia alergicznego [1], bierze też udział w schorzeniach o różnej etiologii [2–8]. Jest wytwarzana przez wiele typów komórek w odpowiedzi na swoistą stymulację. Znacznie mniej poznana chemokina MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein 1 α*) jest białkiem produkowanym przez makrofagi, które biorą udział we wszystkich etapach odpowiedzi immunologicznej, przez cały okres toczącego się procesu zapalnego. MIP-1 α jest czynnikiem chemotaktycznym dla eozynofili i limfocytów. Wykazano, że stężenie tej chemokiny wzrasta w zakażeniach wirusowych [2–4] i bakteryjnych [5]. Bierze również udział w regulacji produkcji immunoglobuliny E, a stężenie jej wzrasta w chorobach alergicznych [6–9]. Liczni badacze oznaczali profile chemokin w wielu chorobach, jednak znaczenie poszczególnych z nich pozostaje nadal do wyjaśnienia.

Ważnym mediatorem w ostrej i przewlekłej odpowiedzi zapalnej organizmu jest elastaza neutrofilowa (EN), silny enzym proteolityczny uwalniany przez neutrofile. EN jest niezbędna do we-

wnątrzkomórkowego zabijania bakterii Gram-ujemnych [10, 11]. W środowisku zewnątrzkomórkowym wolna elastaza jest szybko wiązana i inaktywowana głównie przez inhibitor α_1 – proteinaz (α_1 IP). EN podtrzymuje proces zapalenia przez promowanie chemoatraktantów, szczególnie interleukiny 8 [12] i leukotrienu B₄ [13], które potęgują napływ neutrofilów do tkanek. Również sam kompleks EN- α_1 IP może być czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilów [14]. Rola EN w reakcji zapalnej była i jest nadal przedmiotem zainteresowań wielu autorów.

Największa liczba zachorowań u dzieci jest spowodowana zakażeniem dróg oddechowych (z.d.o.). W większości są to proste zakażenia, wywoływane przez wirusy. Jednak z.d.o. stanowią największy odsetek wśród przyczyn hospitalizacji i są powodem wielokrotnej, czasem nadużywanej, antybiotykoterapii w okresie rozwojowym. Wynika to między innymi z trudności w szybkim rozpoznaniu czynnika zakaźnego. Stosowane wskaźniki ostrego stanu zapalnego i posiewy bakteriologiczne nie zawsze są wystarczające do ustalenia przyczyny choroby. Znajomość roli chemokin i elastazy w procesie zapalenia skłoniła autorów do próby wykorzystania RANTES, MIP-1 α oraz EN- α_1 IP w różnicowaniu etiologii z.d.o. u dzieci.

Celem pracy było oznaczenie surowiczego stężenia chemokin RANTES i MIP-1 α oraz EN- α_1 IP w ostrej fazie zakażenia i po ustąpieniu objawów choroby, a także ocena ich przydatności w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci.

Materiał i metody

Badaniem objęto 29 dzieci płci obojga w wieku 4–16 lat, hospitalizowanych w Klinice Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego AM we Wrocławiu z powodu ostrego zakażenia dróg oddechowych. Kryteriami kwalifikacji do badań były: ostra faza zakażenia, rozpoznanie zapalenia płuc i/lub oskrzeli. Z badań wykluczono dzieci

z towarzyszącym zakażeniem innych układów i narządów, z zaburzeniami odporności oraz ze schorzeniami ogólnoustrojowymi.

Wyodrębniono dwie grupy pacjentów.

Do pierwszej grupy zakwalifikowano 15 dzieci, u których chorobie zasadniczej (tj. zapaleniu płuc i/lub oskrzeli) towarzyszyło ropne zakażenie górnych dróg oddechowych, np.: angina ropna, katar ropny, zapalenie zatok przynosowych. Z posiewów mikrobiologicznych z nosa i/lub gardła i/lub płwociny wyhodowano: *Staphylococcus aureus* (46% posiewów), *Staphylococcus koagulans* (26% posiewów), *Streptococcus pneumoniae* (20% posiewów), *Hemophilus influenzae* (13% posiewów), *Escherichia coli* (13% posiewów), *Klebsiella pneumoniae* (6% posiewów), *Corynebacterium* sp. (6% posiewów) – u części pacjentów obserwowano więcej niż jeden szczep bakterii.

Do drugiej grupy zakwalifikowano 14 pacjentów, u których rozpoznano zapalenie płuc i/lub oskrzeli. Wyniki badań laboratoryjnych i posiewów mikrobiologicznych u tych dzieci wykluczały bakteryjne zakażenie górnych dróg oddechowych, a obserwacja kliniczna sugerowała wirusowe tło choroby. Charakterystykę pacjentów przedstawiono w tabeli 1. Grupę kontrolną stanowiło 16 dzieci zdrowych w podobnym wieku, obojga płci, u których nie stwierdzono schorzenia organicznego. Dzieci te były hospitalizowane z powodu, np. zatrucia alkoholem, bólów brzucha (nerwica, menstruacja) itp., a wyniki badań dodatkowych pozostawały w granicach normy. Krew do badań pobierano podczas badań kontrolnych. Krew żylną do badań pobierano w pierwszej lub drugiej dobie choroby, w ciągu pierwszych 12 godzin hospitalizacji. Drugie badanie wykonano po ustąpieniu objawów klinicznych choroby i zakończeniu leczenia, przy okazji badań kontrolnych. Analizowano surowicze stężenie chemokiny RANTES, MIP-1 α oraz EN- α_1 IP w osoczu. Surowicze stężenie chemokin RANTES i MIP-1 α oznaczano immunoenzymatyczną metodą fazy stałej ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) z użyciem DuoSet ELISA Development System (R & D, Minneapolis, USA). Dolna granica wykrywalności dla RANTES wynosiła 0,878 pg/ml, dla MIP-1 α – 2,382 pg/ml. Wszystkie próbki oznaczano podwójnie z dwóch kolejnych rozcieńczeń, aby wartości stężeń leżały w zakresie linearnego odcinka krzywej. EN- α_1 IP oznaczano w osoczu metodą ELISA, stosując gotowe zestawy odczynników (Merck, Niemcy). Wyniki badań w grupie dzieci zdrowych przyjęto za wartości prawidłowe.

Analiza statystyczna

Dane, które cechowały się normalnym rozkładem (RANTES), prezentowano za pośrednictwem

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów

Table 1. Characteristic of the patients

	Grupa I (Group I) n = 15	Grupa II (Group II) n = 14	Grupa kontrolna (Control group) n = 16
Płeć (Sex)			
żeńską (female)	7	6	9
męską (male)	8	8	7
n			
Wiek – lata – średnia \pm SD (Age – years mean \pm SD)	9,5 \pm 3,6	7,75 \pm 3,9	10,7 \pm 3,3
Zapalenie płuc (Pneumonia) n	8	5	–
Zapalenie oskrzeli (Bronchitis) n	12	11	–
Angina ropna (Angina purulent) n	7	–	–
Ropne zapalenie zatok (Sinistis purulent)	4	–	–
Katar ropny (Rhinitis purulent) n	6	–	–

n – liczba pacjentów.

n – number of patients.

średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego (\pm SD), te natomiast, których rozkład nie był normalny (MIP-1 α i EN- α_1 IP) przedstawiano za pomocą mediany i zakresu. W celu oszacowania różnic w stężeniach oznaczanych mediatorów między badanymi grupami zastosowano następujące testy: test *t*-Studenta dla zmiennych niezależnych przy ocenie RANTES; test Walda-Wolfowitza przy ocenie MIP-1 α oraz test Manna-Whitneya przy ocenie kompleksu EN- α_1 IP. Do oszacowania różnic natomiast w stężeniu wspomnianych mediatorów w obrębie poszczególnych grup zastosowano odpowiednio: test T dla zmiennych zależnych przy ocenie RANTES oraz test Wilcoxa przy ocenie MIP-1 α i EN- α_1 IP. Dla wartości $p < 0,05$ przyjmowano istnienie istotności statystycznej.

Wyniki

Stężenie chemokin RANTES i MIP-1 α oznaczono w surowicy u 29 pacjentów i 16 zdrowych dzieci należących do grupy kontrolnej. Nie stwier-

dzono istotnych statystycznie różnic między surowiczym stężeniem RANTES w grupie I w porównaniu z grupą II, zarówno w ostrej fazie zakażenia (grupa I: $60,2 \pm 24$ pg/ml; grupa II: $54,2 \pm 17,1$ pg/ml), jak i po leczeniu (grupa I: $56,6 \pm 33$ pg/ml; grupa II: $47,6 \pm 20,7$ pg/ml). W obu badanych grupach dzieci w przebiegu ostrej fazy choroby zaobserwowano wyższe średnie wartości stężeń chemokiny w porównaniu z jej stężeniem w grupie kontrolnej ($47,8 \pm 17,9$ pg/ml). Różnice te nie miały jednak znamion istotności statystycznej.

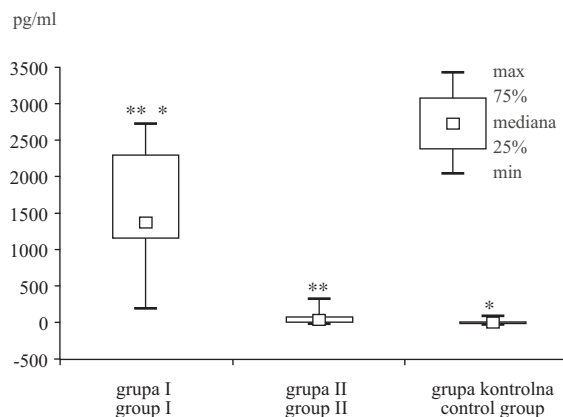
W grupie I, w której zapaleniu płuc lub oskrzeli towarzyszyło ropne zakażenie górnych dróg oddechowych, surowicze stężenie MIP-1 α było znacznie statystycznie wyższe zarówno w ostrej fazie choroby (mediana: 1387,2 [208–2734,4] pg/ml; $p < 0,000001$; ryc. 1), jak i po leczeniu (mediana: 1211,8 pg/ml [99,6–3529,8]; $p < 0,00005$; ryc. 2) w porównaniu z grupą kontrolną (mediana: 17,2 g/ml [4,4–107,2]). W grupie I obserwowano także istotne statystycznie zmniejszenie surowiczego stężenia MIP-1 α po zakończeniu leczenia, w odniesieniu do stężenia tej chemokiny uzyskanego na początku choroby ($p < 0,02$).

W grupie II (bez zakażenia ropnego) nie obserwowano różnic między stężeniem MIP-1 α w ostrej fazie choroby (mediana: 48,9 pg/ml [10,6–341,9]) i po jej zakończeniu (mediana: 49,3 pg/ml [11,6–321,6]). W grupie tej zarówno w ostrej fazie choroby, jak i po jej zakończeniu obserwowano nieznacznie wyższe stężenie MIP-1 α w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną, nie miało to jednak znaczenia statystycznego (ryc. 1 i 2).

Porównując wartości stężeń MIP-1 α w surowicy pacjentów z grupy I i II w ostrej fazie zakażenia, wykazano istotnie statystycznie większe stężenie MIP-1 α w grupie I, w której chorobie zasadniczej towarzyszyło zakażenie ropne górnych dróg oddechowych w porównaniu z grupą II, w której takiego zakażenia nie obserwowano ($p < 0,00005$; ryc. 1). Znamienne większe stężenie tej chemokiny u pacjentów z grupy I w porównaniu z grupą II zaobserwowano również po zakończonym leczeniu ($p < 0,01$; ryc. 2).

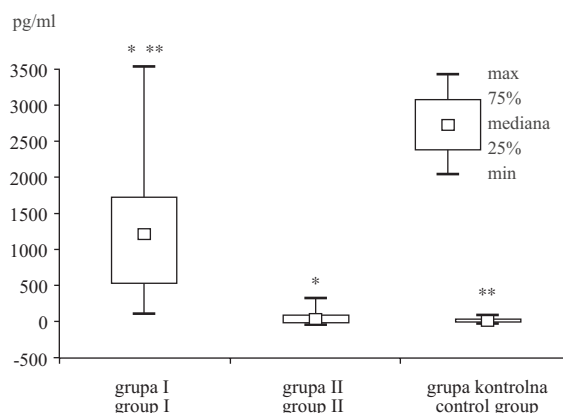
EN- α_1 IP oznaczono u 14 dzieci z grupy I oraz u 12 dzieci z grupy II. Stężenie EN- α_1 IP w osoczu pacjentów z grupy I było znacznie większe w ostrej fazie choroby (mediana: 129,8 μ g/ml [47,4–488,6]) w porównaniu z wynikami uzyskanymi w okresie zdrowienia (mediana: 66,8 μ g/ml [34,1–204]; $p < 0,05$), a także w porównaniu z grupą kontrolną (mediana: 73,5 μ g/ml [31,8–117,4]; $p < 0,05$). Stężenie EN- α_1 IP w osoczu po zakończonym leczeniu nie różniło się statystycznie od wyników badań w grupie kontrolnej (ryc. 3).

Podobne wyniki uzyskano analizując stężenie EN- α_1 IP w osoczu w II grupie badawczej. Analiza



Ryc. 1. Porównanie stężenia MIP-1 α w surowicy pacjentów w trakcie ropnej (grupa I) i nieropnej (grupa II) ostrej fazy choroby: * – różnica istotna statystycznie ($p < 0,00005$), ** – różnica istotna statystycznie ($p < 0,000001$)

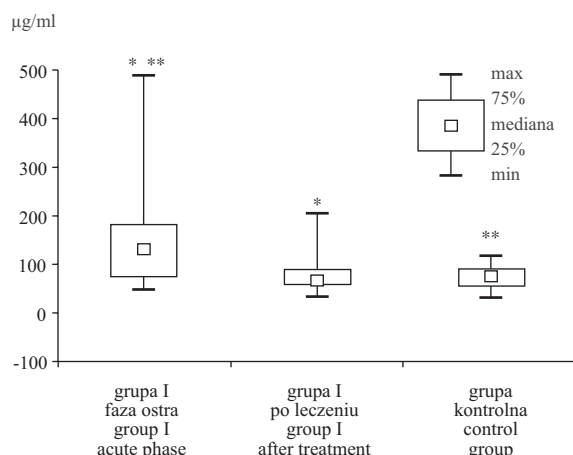
Fig. 1. Comparison of MIP-1 α concentration in sera of patients in the course of purulent (group I) and not purulent (group II) acute phase of the disease: * – the difference was statistically significant ($p < 0.00005$), ** – the difference was statistically significant ($p < 0.000001$)



Ryc. 2. Porównanie stężenia MIP-1 α w surowicy pacjentów z grupy I i II w okresie zdrowienia po leczeniu: * – różnica istotna statystycznie ($p < 0,01$), ** – różnica istotna statystycznie ($p < 0,00005$)

Fig. 2. Comparison of MIP-1 α concentration in sera of patients from group I and II in the convalescent phase of the disease: * – the difference was statistically significant ($p < 0.01$), ** – the difference was statistically significant ($p < 0.00005$)

statystyczna wykazała, że u tych dzieci ostrej fazy choroby towarzyszyły znamienne większe wartości stężeń EN- α_1 IP (mediana: 117 μ g/ml [59,2–388,6]) w porównaniu z wartościami po leczeniu (mediana: 73,7 μ g/ml [34,2–137,2]; $p < 0,005$), a także w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,006$). Po zakończonym leczeniu stężenie EN- α_1 IP w osoczu znormalizowało i nie różniło się istotnie



Ryc. 3. Surowicze stężenie kompleksu EN- α_1 IP w przebiegu zapalenia płuc lub oskrzeli, powikłanego ropnym zakażeniem górnych dróg oddechowych: *, ** – różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$)

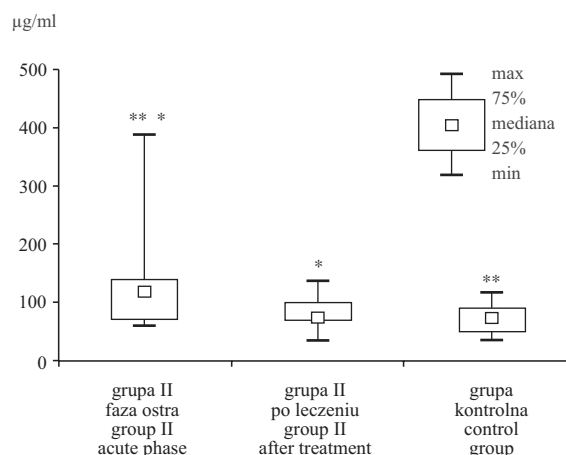
Fig. 3. The serum concentration of EN- α_1 IP complex in the course of pneumonia or bronchitis with purulent infection of upper airways: *, ** – the differences were statistically significant ($p < 0.05$)

od wyników badań w grupie kontrolnej (ryc. 4). Zarówno w ostrej fazie, jak i po leczeniu różnice między stężeniem EN- α_1 IP w osoczu pacjentów z grupy I w porównaniu z wynikami badań pacjentów z grupy II nie były istotne statystycznie.

Omówienie

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę zachowania się i przydatności chemokin: RANTES i MIP-1 α oraz EN- α_1 IP w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci. RANTES jest jedną z najlepiej poznanych chemokin, jednak jej udział w zakażeniach nie jest do końca wyjaśniony. Badania ostatnich lat zarówno eksperymentalne, jak i przeprowadzone w przebiegu naturalnego zakażenia wykazały udział tej chemokiny w miejscu zapalenia, w zakażeniu wywołanym przez wirusy. Zwiększone wydzielanie RANTES pod wpływem zakażenia wirusem RSV, RV i grypy opisało wielu badaczy [3, 4, 15, 16]. U dzieci w przebiegu zakażenia wirusem RSV w wydzielinie z nosa stwierdzono duże stężenia tej chemokiny [15]. Wielu autorów potwierdza, że chemokina bierze udział również w zakażeniach bakteryjnych, a zwłaszcza w chorobach wywołanych przez wewnątrzkomórkowe patogeny. Stężenie chemokiny RANTES wzrasta w gruźlicy, w ostrej fazie zakażenia [17, 18], a także w zakażeniu *Pneumocystis carinii* [19].

Wyniki badań własnych nie wykazały istotnie większych stężeń chemokiny RANTES w surowi-



Ryc. 4. Surowicze stężenie kompleksu EN- α_1 IP w przebiegu zapalenia płuc lub oskrzeli, bez towarzyszącego zakażenia górnych dróg oddechowych: * – różnica istotna statystycznie ($p < 0,005$), ** – różnica istotna statystycznie ($p < 0,006$)

Fig. 4. The serum concentration of EN- α_1 IP complex in the course of pneumonia or bronchitis without purulent infection of upper airways: * – the difference was statistically significant ($p < 0.005$), ** – the difference was statistically significant ($p < 0.006$)

cy dzieci chorych na zapalenie płuc i/lub oskrzeli, w obu badanych grupach w porównaniu z grupą kontrolną. Można więc wnioskować, że wzrostowi chemokiny RANTES w miejscu zapalenia nie towarzyszy zwiększenie jej stężenia w surowicy.

Znacznie mniej poznana chemokina MIP-1 α wydaje się odgrywać istotną rolę w zakażeniach. Liczne badania Garofalo i Olszewskiej-Pazdrak nad zakażeniem dróg oddechowych wirusami RSV wykazały między innymi, że zakażone przez wirusy komórki nabłonka małych oskrzelików i płuc wytwarzają MIP-1 α , a eozynofile uwalniają RANTES i MIP-1 α [3]. Obecność chemokin RANTES i MIP-1 α obserwowano w wydzielinie z nosa u dzieci w wieku 8–10 lat z z.d.o. wywołanym przez RSV, adenowirusy, wirusy grypy i paragrypy [4]. W zapaleniu płuc u myszy, wywołanym przez *Mycoplasma pneumoniae*, wykazano wzrost MIP-1 α i β [5]. Zakażenie wywołane prątkiem gruźlicy stymuluje wydzielanie chemokin MCP-1 i MIP-1 α przez monocyty, nie stymuluje natomiast komórek nabłonka pęcherzyków płucnych do wydzielania chemokiny MIP-1 α [18]. U pacjentów z aktywną gruźlicą płucną nie stwierdzono MIP-1 α w BAL [17].

Wyniki własnych badań wskazują na szczególny udział chemokiny MIP-1 α w zakażeniach bakteryjnych. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników wykazała występowanie istotnie większych stężeń chemokiny MIP-1 α w surowicy dzieci z zapaleniem płuc lub oskrzeli powikłanych

ropnym zakażeniem górnych dróg oddechowych w porównaniu z analogicznymi zapaleniami bez powikłań ropnych. Znamienne większe stężenie MIP-1 α w surowicy dzieci z grupy I w ostrej fazie choroby zmniejszyło się w istotny sposób po zakończeniu leczenia, jednak utrzymywało się nadal na zwiększonym poziomie w porównaniu z grupą kontrolną. Nasuwa się więc pytanie, z jakiego powodu średnie wartości stężeń MIP-1 α pozostają nadal duże również wówczas, gdy ustąpiły objawy kliniczne choroby, a wyniki badań dodatkowych znormalizowały się? Można przypuszczać, że stężenie MIP-1 α zmniejsza się znacznie wolniej niż zakładano w naszych badaniach. Nie można jednak wykluczyć, że przyczyną utrzymywania się dużych stężeń tej chemokiny w surowicy jest częsta stymulacja ich wytwarzania, spowodowana nawracającymi zakażeniami występującymi u dzieci. Nasze obserwacje wymagają dalszych badań. W dostępnym piśmiennictwie autorzy badań nie znaleźli doniesień, które można by porównać z przedstawionymi w tej pracy wynikami.

Wykazany znamienny wzrost chemokiny MIP-1 α może być wykorzystany jako wartościowy wskaźnik w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych u dzieci. Wstępne wyniki obserwacji wymagają jednak dalszych badań.

Dobrym miernikiem do oceny toczących się procesów zapalnych okazała się EN- α_1 IP, której wzrost w ostrej fazie choroby i powolne zmniejszanie się w miarę zdrowienia pozwala dobrze monitorować przebieg choroby. Wielu badaczy wykazało udział EN- α_1 IP w zakażeniach zarówno bakteryjnych, jak i wirusowych. Na podstawie analizy piśmiennictwa i badań własnych można wnioskować, że kompleks EN- α_1 IP jest jednym z nowych wskaźników, który można wykorzystać w ocenie dynamiki stanu zapalnego [20].

Przedstawione wyniki badań wskazują, że stężenie chemokiny RANTES nie wzrasta w surowicy w przebiegu zakażenia dróg oddechowych u dzieci. Biorąc pod uwagę wyniki badań i dane z piśmiennictwa, wydaje się, że chemokina RANTES powinna być oznaczana w miejscu toczącego się procesu zapalnego, a nie w surowicy.

Przeprowadzona analiza sugeruje, że chemokina MIP-1 α może się okazać wybitnie czułym i swoistym wskaźnikiem toczącego się procesu zapalnego w przebiegu zakażeń bakteryjnych. Oznaczanie w surowicy może być pomocne w różnicowaniu etiologii zakażeń dróg oddechowych u dzieci oraz w wyborze właściwego leczenia. Ocena dynamiki zmian stężenia EN- α_1 IP w osoczu może mieć duże znaczenie z punktu widzenia diagnostycznego, prognostycznego i leczniczego.

Piśmiennictwo

- [1] Grob M, Schmid-Grendelmeir P, Joller-Jemelka H, Ludwig E, Dubs R, Grob P, Wuthrich B, Bisset L: Altered intracellular expression of the chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and IL-8 by peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ cells in mild allergic asthma. *Allergy* 2003, 58, 239–245.
- [2] Zhang Y, Luxon B, Casola A, Garofalo R, Jamaluddin M, Brasier A: Expression of respiratory syncytial virus-induced chemokine gene networks in lower airway epithelial cells revealed by cDNA microarrays. *J Virol* 2001, 75, 9044–9058.
- [3] Olszewska-Pazdrak B, Casola A, Saito T, Alam R, Crowe S, Mei F, Ogra P, Garofalo R: Cell-specific expression of RANTES, MCP-1, and MIP-1 α by lower airway epithelial cells and eosinophils infected with respiratory syncytial virus. *J Virol* 1998, 72, 4756–4764.
- [4] Bonville C, Rosenberg H, Domachowske J: Macrophage inflammatory protein-1 α and RANTES are present in nasal secretion during ongoing upper respiratory tract infection. *Pediatr Allergy Immunol* 1999, 10, 39–44.
- [5] Simecka J: Beta-chemokines are produced in lung of mice with mycoplasma respiratory disease. *Curr Microbiol* 1999, 39, 163–167.
- [6] Holgate S, Bodey K, Janzic A, Few A, Kaplan A, Teran L: Release of RANTES, MIP-1 α and MCP-1 into asthmatic airways following endobronchial allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 156, 1377–1383.
- [7] Lukacs N, Standiford T, Chensue S, Kunkel R, Strieter R, Kunkel S: C-C chemokine-induced eosinophil chemotaxis during allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol* 1996, 60, 573–578.
- [8] Lukacs N, Strieter R, Chensue S, Kunkel S: Activation and regulation of chemokines in allergic airway inflammation. *J Leukoc Biol* 1996, 59, 13–17.
- [9] Hatano Y, Katagiri K, Takayasu S: Increased levels *in vivo* of mRNAs for IL-8 and macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), but not of RANTES mRNA in peripheral blood mononuclear cells of patients with atopic dermatitis (AD). *Clin Exp Immunol* 1999, 117, 237–243.
- [10] Belaouaj A, Kim K, Shapiro S: Degradation of outer membrane protein A in *Escherichia coli* killing by neutrophil elastase. *Science* 2000, 289, 1185–1188.
- [11] Weinrauch Y, Drujande D, Shapiro S: Neutrophil elastase targets virulence factors of enterobacteria. *Nature* 2002, 417, 91–94.
- [12] Nakamura H, Yoshimura K, McElvaney N, Crystal R: Neutrophil elastase in respiratory epithelial lining fluid of individuals with cystic fibrosis induces interleukin-8 gene expression in human bronchial epithelial cell line. *J Clin Invest* 1992, 89, 1478–1484.

- [13] **Hubbard R, Fells G, Gadek S:** Neutrophil accumulation in the lung in alpha-1-antitrypsin deficiency: spontaneous release of leukotriene B₄ by alveolar macrophages. *J Clin Invest* 1991, 88, 891–897.
- [14] **Banda M, Rice A, Griffin G, Senior R:** The inhibitory complex of human alpha-1-proteinase inhibitor and human leukocyte elastase in a neutrophil chemoattractant. *J Exp Med* 1988, 167, 1608–1615.
- [15] **Noah T, Ivins S, Murphy P, Kazachkova I, Moats-Staats B, Henderson F:** Chemokines and inflammation in the nasal passages of infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Immunol* 2002, 104, 86–95.
- [16] **Matsukura S, Kokubu F, Kubo H, Tomita T, Tokunaga H, Kadokura M, Yamamoto T, Kuroiwa Y, Ohno T, Suzaki H, Adachi M:** Expression of RANTES by normal airway epithelial cells after influenza virus A infection. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1988, 18, 255–264.
- [17] **Kurashima K, Mukaida N, Fujimura M, Yasui M, Nakazumi Y, Matsuda T, Matsushima K:** Elevated chemokine levels in bronchoalveolar lavage fluid of tuberculosis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155, 1474–1479.
- [18] **Sadek M, Sada E, Toossi Z, Schwander S, Rich E:** Chemokines induced by infection of mononuclear phagocytes with mycobacteria and present in lung alveoli during active pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998, 19, 513–521.
- [19] **Wright T, Johnston C, Harmsen A, Finkelstein J:** Chemokine gene expression during *Pneumocystis carinii* driven pulmonary inflammation. *Infect Immunol* 1999, 67, 3452–3460.
- [20] **Polańska B, Jankowski A:** Kompleks elastazy z inhibitorem alfa1-proteinaz w osoczu dzieci chorych na zapalenie oskrzeli. *Pediatr Pol* 1996, 71, 765–769.

Adres do korespondencji:

Barbara Basiewicz-Worsztynowicz
Katedra Propedeutyki Pediatrii i Klinika Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego AM
ul. Kasprowicza 64/66
51-137 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 27.07.2004 r.

Po recenzji: 8.09.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 8.10.2004 r.

Received: 27.07.2004

Revised: 8.09.2004

Accepted: 8.10.2004