

УДК 616. 248-053.2-07

## КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Олійник О.В.

Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

Ключові слова: астма, діти, імунна система, еозинофіли

**Вступ.** Бронхіальна астма є однією з актуальних проблем сучасної педіатрії та дитячої алергології. Це зумовлено значним зростанням її розповсюдженості, збільшенням частоти захворювання, більш тяжким його протіканням, зміщенням дебюту хвороби на більш ранній вік, почастищенням летальних випадків під час астматичного приступу [2, 3]. Часто бронхіальна астма своєчасно не діагностується, особливо в ранньому дитячому віці. Це пов'язано з труднощами застосування стандартного діагностичного підходу до верифікації діагнозу у дітей даної вікової групи [3]. За даними літератури останніх років, найбільш частою формою бронхіальної астми у дітей раннього віку є atopічна [2, 10]. Аналіз вивчених літературних джерел свідчить, що однією з ключових клітин, які беруть активну участь у формуванні алергічного запалення при atopічній формі бронхіальної астми є еозинофільний гранулоцит крові [5, 9]. Ефекторні функції еозинофілів пов'язані з продукцією при їх активації цілого спектру цитотоксичних речовин (основний лужний білок, пероксидаза, еозинофільний катіонний білок, еозинофільний нейротоксин) [4,8]. При визначенні ролі еозинофільних гранулоцитів крові в реалізації алергічного запалення при atopічній бронхіальній астмі більше уваги приділяється їх морфометричним характеристикам, ніж визначенню метаболічної активності даних гранулоцитів, що на наш погляд є більш суттєвим.

Крім наявності алергічного компоненту запального процесу при бронхіальній астмі виникають значні імунологічні зміни, які характерні саме для atopічного варіанту бронхіальної астми. Так, специфічні Т-клітинні клони atopічних хворих мають аберантний профіль вироблення цитокінів [1,7,8]. Вони є специфічними індукторами синтезу IgE, а також являють собою значні індуктори проліферації еозинофілів. Виникає зсув реакції імунної системи в бік посилення Th-2 залежної відповіді, що супроводжується підвищеною продукцією IL-4, що індукують секретію В-лімфоцитами специфічних IgE, активуючих еозинофіли [6]. Виходячи з вищевказаного, комплексна оцінка показників метаболічної активності основних прозапальних клітин алергічного процесу – еозинофілів крові, а також вивчення показників імунологічного статусу у дітей раннього віку, хворих на бронхіальну астму представляються актуальним та перспективним.

**Мета роботи** – визначення діагностичної цінності імунологічних показників у виявленні atopічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку.

**Матеріали та методи.** Сформовано дві клінічні групи порівняння. Першу склали 80 дітей, які поступили в пульмонологічне відділення ОДКЛ м. Чернівці в зв'язку з бронхіальною астмою. Другу клінічну групу склали 50 дітей з епізодами клінічних проявів обструкції бронхів, в яких був діагностований обструктивний бронхіт. За статтю та віком на час обстеження діти груп порівняння були співставленими.

Не було відмічено також значної відмінності в аналізі раннього перинатального анамнезу дитинства та частоті клінічних проявів підвищеної чутливості обстежених дітей до продуктів харчування та медикаментів.

Не виявлено і суттєвих відмінностей щодо ступеня важкості бронхообструктивного синдрому у дітей груп порівняння, відсоток дітей із легким ступенем важкості в першій групі склав  $43 \pm 5,5\%$ , із середнім –  $40 \pm 8,1\%$ , важким –  $17 \pm 4,2\%$ , а в другій групі відповідно –  $40 \pm 6,1\%$ ,  $38 \pm 6,8\%$ ,  $22 \pm 5,8\%$  ( $p > 0,05$ ). За місцем проживання діти груп порівняння були співставимі. Клінічні прояви бронхіальної обструкції у дітей груп порівняння суттєво не відрізнялись.

Таким чином, діти сформованих груп порівняння при подальшому аналізі отриманих результатів обстеження можуть розглядатись як пари. Дітям груп порівняння на 3-й день поступлення в стаціонар були проведенні імунологічні дослідження (визначення CD3, CD4, CD8 -клітин за допомогою моноклональних антитіл; вмісту В-лімфоцитів (ЕАС-РУК) за допомогою реакції спонтанного та комплементарного розеткоутворення, сироваткового інтерлейкіну-4, імуноглобуліну Е, визначення метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів крові шляхом визначення: внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків за Пігаревським, внутрішньоклітинного вмісту пероксидази за Шубічем, тесту з нітросинім тетразолієм в спонтанному та стимульованому пірогеналом його варіантах (Park B.H. et al., 1968). Отримані дані аналізували методом варіаційної статистики з використанням програм на МК-54 і МК-61 і програм Statistika та персональному комп'ютері типу IBM-386. Контрольною групою були 20 практично здорових дітей дитбудинку "Малютка" м. Чернівці, які за статтю і віком значно не відрізнялись від хворих клінічних груп порівняння.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Враховуючи наявність на даний час більш специфічних і чутливих методів детермінації субпопуляцій Т-лімфоцитів, дітям груп

спостереження було проведено визначення CD-маркерів за допомогою моноклональних антитіл. Вміст цих клітин представлений в таблиці 1.

У дітей першої клінічної групи відмічено достовірне підвищення абсолютного та відносного

вмісту CD3-клітин. Підвищення загального вмісту Т-лімфоцитів у представників першої клінічної групи зумовлено в основному підвищеним вмістом в них CD4-клітин, функція яких асоціюється з хелперною.

Таблиця 1

Абсолютний вміст показників клітинного імунітету у дітей груп порівняння

Клінічні групи	Кількість дітей	CD3, Г/л	CD4, Г/л	CD8, Г/л	CD4/ CD8
I. Хворі на бронхіальну астму	32	1,75±0,68	1,22±0,94	1,18±0,01	2,48±0,9
II. Хворі на обструктивний бронхіт	20	1,23±0,06	0,68±0,02	0,53±0,02	1,23±0,12
Здорові діти	10	1,28±0,05	0,7±0,03	0,63±0,02	0,9±0,08
P I: II		<0,05	<0,05	<0,01	<0,05

Враховуючи наведені дані, можна припустити, що у дітей першої клінічної групи, представленої хворими на atopічну форму бронхіальної астми в реалізації запального процесу в верхніх дихальних шляхах приймають участь також імункомпетентні клітини. Наведене припущення підтверджується наявністю сильного корелятивного зв'язку у дітей другої групи між абсолютним вмістом CD4-клітин та спонтанним НСТ-тестом еозинофільних гранулоцитів крові ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,01$ ). Отримані дані дають підставу вважати, що показники клітинного імунітету можливо використовувати для підтвердження atopічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку.

Також було цікавим оцінити у обстежених дітей показники гуморального імунітету. Абсолютний вміст В-лімфоцитів у дітей груп порівняння значно не відрізнявся. У дітей груп порівняння відмічено достовірну різницю по вмісту IgA (у дітей першої групи вміст IgA в сироватці крові склав  $0,98 \pm 0,09$  г/л, в другій групі відповідно –  $0,74 \pm 0,1$  г/л,  $p < 0,05$ ). Підвищення в крові обстежених дітей першої клінічної групи рівня імуноглобулінів класу А мабуть відображає наявність хронічного запального процесу в дихальних шляхах, що реалізується за участю Т-хелперів. По вмісту в сироватці крові імуноглобулінів

класів M, G у дітей груп спостереження достовірної різниці не відмічено. У дітей першої групи вміст в крові загального імуноглобуліну E коливався від 354 до 1558 МО/мл, причому значення його більше 500 МО/мл визначались у  $73,2 \pm 4,9\%$  представників першої клінічної групи, тоді як у дітей другої групи спостереження лише у  $32,4 \pm 6,6\%$  ( $p < 0,05$ ). Наявність підвищеного вмісту в сироватці крові IgE, у дітей першої клінічної групи підтверджувало позитивну atopічну реактивність.

У представників першої та другої клінічних груп визначали вміст в сироватці крові інтерлейкіну-4, який є основним індуктором синтезу імуноглобуліну E. У дітей першої групи спостереження вміст інтерлейкіну-4 склав  $38,14 \pm 4,36$  пкг/мл, у представників другої відповідно  $33,5 \pm 3,8$  пкг/мл. ( $p < 0,05$ ) Відмічене помірне збільшення вмісту в сироватці крові інтерлейкіну-4 у дітей, хворих на atopічну форму бронхіальної астми на відміну від дітей, хворих на обструктивний бронхіт вірусної етіології свідчить про залучення імунних механізмів регуляції запалення верхніх дихальних шляхів, яке реалізується при atopічному варіанті бронхіальної астми.

Таблиця 2

Показники метаболічної активності еозинофілів крові

Клінічні групи	Кількість дітей	Показники метаболічної активності еозинофілів	
		Пероксидаза, у.о.	Катіонні білки, у.о.
I. Хворі на бронхіальну астму	80	1,8 ± 0,01	1,34 ± 0,08
II. Хворі на обструктивний бронхіт	50	2,2 ± 0,02	1,93 ± 0,03
Здорові діти	20	2,4 ± 0,01	2,2 ± 0,02
P I: II		$p < 0,05$	$p < 0,01$

Виходячи з того, що в основі розвитку бронхіальної астми лежить хронічне запалення

дихальних шляхів, обумовлене пізньою алергічною реакцією, в якій приймають участь основні

прозапальні клітини – еозинофіли, доцільним було визначити їх метаболічну активність. Пошкоджуюча дія еозинофільних лейкоцитів реалізується за рахунок викиду з них в позаклітинний простір специфічних речовин, до яких належать катіонні білки та пероксидаза, було виправданам визначити внутрішньоклітинний вміст зазначених речовин. Отримані данні представлені в таблиці 2.

У дітей першої клінічної групи відмічено значне зниження внутрішньоклітинного вмісту в еозинофілах крові пероксидази та катіонних білків, причому більш достовірна різниця між представниками груп спостереження відмічена по вмісту катіонних білків. У дітей хворих на atopічну форму бронхіальної астми значення внутрішньоклітинного вмісту еозинофільної пероксидази коливались від 1,66 до 1,88 у.о., а катіонних білків від 1,3 до 1,6 у.о. У дітей другої клінічної групи відповідно від 2,2 до 2,5 у.о. та від 1,89 і до 2,2 у.о. Відмічено зниження внутрішньоклітинного вмісту цитотоксичних речовин при atopічній формі бронхіальної астми може бути пояснене їх дегрануляцією із активованих алергенами еозинофілів. Найнижчи показники внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків та пероксидази спостерігались у дітей із наявністю від'ємного резерву оксидазної метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів, що ще раз свідчить на користь “скомпроментованості” метаболізму еозинофілів крові при їх алергенній надстимуляції. Між показниками спонтанного НСТ-тесту еозинофілів та вмістом лізосомально-катіонних білків у цих клітинах виявлений негативний

корелятивний зв'язок ( $r=-0,64$ ,  $p<0,05$ ), що зворотно відображає схильність ефektorних клітин до дегрануляції цитотоксичних речовин. Відмічено помірний корелятивний зв'язок між вмістом катіонних білків та пероксидази в еозинофільних лейкоцитах ( $r=0,42,86$ ;  $p<0,05$ ), а також між вмістом цих цитотоксичних речовин та кількістю CD4-клітин виявлено негативну корелятивну взаємозалежність ( $r=-0,64$ ;  $p<0,05$ ), а між вмістом CD8-клітин позитивний зв'язок ( $r=0,58$ ;  $p<0,05$ ). Наявність даних корелятивних зв'язків ще раз підтверджує припущення про те, що метаболічна активність головних прозапальних клітин алергічного запалення – еозинофілів детермінується активованими Т-хелперами (CD4+). У представників другої клінічної групи, представленою хворими на обструктивний бронхіт ступінь активації метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові за даними по вмісту в них катіонних білків та пероксидази не має корелятивного зв'язку з жодним з вищевказаних компонентів клітинного імунітету. Можливо, у дітей з наявністю вірусної інфекції, метаболічна активність еозинофілів детермінується іншими механізмами. Використовуючи в якості розподільчої точки показник метаболічної активності еозинофілів за даними внутрішньоклітинного вмісту катіонних білків, що дорівнює 1,5 у.о., пероксидази – 2,0 у.о. показник сироваткового інтерлейкіну-4 – 35 пкг/мл, сироваткового імуноглобуліну E – 500 МО, вивчено їх діагностичну цінність у відношенні виявлення atopічної реактивності, у хворих на бронхіальну астму і дітей з обструктивним бронхітом (табл.3).

Таблиця 3

Діагностична цінність та відношення ризиків показників метаболічної активності еозинофілів крові та показників гуморальної ланки імунітету, щодо виявлення atopічної реактивності у дітей раннього віку

Показники	Діагностична цінність				Відношення ризиків	
	Se,%	Sp,%	PV(+),%	PV(-),%	AR,%	OR
Катіонні білки еозинофілів (<1,5у.о.) та Пероксидаза (<2,0 у.о.)	80	64	62	82	18	2,0*
Інтерлейкін-4 (>35пкг/мл) та імуноглобулін E (>500 МО/мл)	76	68	63	86	19	2,2**

Примітка. \* (95%CI:1,2-2,8)  $\chi^2=8,8$ ; Pt<0,01

\*\* (95%CI:1,2-3,8)  $\chi^2=8,9$ ; Pt<0,01

Запропоновані діагностичні тести мають високу чутливість, помірну специфічність та негативну передбачувану цінність, що дозволяє використовувати їх в якості методів первинного скринінгу atopічної реактивності у дітей раннього віку.

За допомогою корелятивного аналізу був

встановлений зв'язок між внутрішньоклітинним вмістом еозинофільної пероксидази та кількістю CD8-клітин ( $r=0,58$ ,  $p<0,05$ ). Знайдений зв'язок можливо вказує на імунну регуляцію дегрануляції цитотоксичних речовин еозинофілами крові. У дітей, хворих на обструктивний бронхіт подібний зв'язок був дуже слабким ( $r=0,38$ ,  $p>0,05$ ). Можливо це

пов'язано з тим, що при обструктивному бронхіті, викликаному в основному вірусними чинниками, дегрануляція детермінується іншими механізмами.

**Висновки.** 1. Для атопічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку характерно зниження в них вмісту катіонних білків (<1,5у.о.) та пероксидази (<2,0у.о.), наявність від'ємного резерву метаболічної активності еозинофілів крові. Визначення цих показників з достатньою чутливістю та негативною

передбачуваною цінністю може бути використане в якості первинного скринінгу атопічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку.

2. Для дітей раннього віку з наявністю атопічної реактивності притаманно підвищення вмісту CD4+клітин, дисбаланс CD4+/CD8+, збільшення вмісту в сироватці крові інтерлейкіну-4 (>35пкг/мл), концентрації імуноглобуліну E (>500 МО/мл).

## ЛІТЕРАТУРА

1. Агафонова І.О. Оцінка імунної системи у хворих на бронхіальну астму та підходи до індивідуалізованої терапії // Медичні перспективи. – 1998. – Т. 3, №2. – С. 49-52.
2. Куличенко Т.В., Климанская Е.В., Лукина О.Ф. и др. Дифференциальная диагностика бронхиальной астмы у детей раннего возраста. // Российский вестник перинатологии и педиатрии.- 2000.- №6.-С.25-28.
3. Охотнікова О.М. Особливості дебюту бронхіальної астми у дітей перших років життя // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1999. – №4. – С. 140-141.
4. Славинский А.А., Никитина Г.В. Цитохимическое выявление катионных белков в гранулоцитах крови амидо черным 10Б для визуальной оценки и компьютерного анализа изображения // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – №2. – С. 35-37.
5. Фассахов Р.С. Эозинофильный лейкоцит как ключевая клетка воспаления при атопической бронхиальной астме // Патфизиология и экспериментальная медицина. – 1999. – №1. – С 22-24.
6. Чернуский В.Г., Безкоровайная О.И. Роль лимфокинов сенсибилизированных Т-лимфоцитов в патогенезе бронхиальной астмы у детей. // Врачебная практика.- 2001.- №5. – С.38-44.
7. Яковлева Н.Н., Никонова М.Ф., Литвина М.М. и др. Состояние классического и альтернативного путей активации Т-лимфоцитов при хроническом бронхите // Иммунология.- 1994. – №1. – С. 22-26.
8. Ярош А.М., Курч Т.К., Лебедева Т.Г., Семенова Л.В. Значение цитохимической диагностики воспалительного процесса в легких для лечения и реабилитации детей, больных рецидивирующим бронхитом // Врачебное дело. – 1996. – №7. – С. 68-70.
9. Jerewe M., Jzech W., Morita A. et al. Human eosinophils produce biological active IL-12: implications for control of T-cell responses // J. Immunol. – 1998. – Vol. 28, №2. – P. 125-129.
10. Joseph Christine L.M., Foxman bet Sy, Leickey F. et al. Sensitivity and specificity of asthma differentions and symptoms used in a survey of childhood asthma // J. Asthma. – 1999. – Vol. 39, №7. – P. 565-575.

## SUMMARY

### CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL INDEXES IN EARLY AGE CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

**Oliylyk O.V.**

2 clinical groups of comparison have been created. The first one included 80 children with bronchial asthma. The second one included 50 children with obstructive bronchitis. The significant increase of absolute and relative content of CD3 cells was revealed in patients of the first group (76.57±8.07%, 1.75±0.08 G/l). These indexes were 66.31±3.02% and 1.23±0.06 G/l in the second group. The increase of the general amount of T-lymphocytes in the children of the first clinical group is due mainly to the elevated level of the CD4- cells, their function is associated with the helpers. The significant decrease of the intracellular level of peroxidase and cationic proteins in the blood eosinophils was found in children with bronchial asthma. This difference is especially significant for cationic proteins. The concentration of interleukin-4 in the blood serum of children with bronchial asthma is increased compared with those suffering from obstructive bronchitis of viral etiology.

**Key words:** bronchial asthma, children, eosinophils, immune system