УДК 616.248-097-053.5:577.1

МАРУСИК У.І., БЕЗРУКОВА І.У.[1]
Вищий навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна
[1]Обласна дитяча клінічна лікарня, м. Чернівці, Україна

ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ШКОЛЯРІВ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ПІЗНЬОГО ПОЧАТКУ, ЗАЛЕЖНО ВІД АЦЕТИЛЯТОРНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ

Резюме. Актуальність. *Бронхіальна астма — одне з найбільш поширених захворювань у світі, кількість хворих на яке постійно збільшується, особливо серед дітей. Вважають, що неефективність контролюючої терапії астми, що відмічається практично в половини хворих, зумовлена, зокрема, наявністю різних астма-фенотипів.* ***Мета дослідження:*** *для оптимізації контролю астми пізнього початку оцінити окремі показники клітинної ланки імунної системи в школярів з урахуванням ацетиляторних фенотипів.*
Матеріал та методи. *У пульмонологічному відділенні Обласної дитячої клінічної лікарні м. Чернівців обстежені 72 школярі, хворі на астму пізнього початку (захворювання вперше проявлялось у віці понад 6 років). Залежно від перебігу захворювання дітей розподіляли на дві клінічні групи. До першої групи увійшли 34 пацієнти, в яких визначали повільний тип ацетилювання (середній відсоток ацетильованого сульфадимезину в сечі становив менше 75,0 %). Другу клінічну групу сформували 38 школярів, у яких відмічався швидкий тип ацетилювання (середній відсоток ацетильованого сульфадимезину в сечі становив більше 75,0 %). Усім дітям методом імунофлуоресценції з використанням наборів моноклональних антитіл визначали вміст Т-лімфоцитів, Т-хелперів, Т-кілерів/Т-супресорів та В-лімфоцитів крові.*
Результати. *Ацетилювання повільного типу в дітей, хворих на астму пізнього початку, підвищувало ризик зниження рівня CD3 у периферичній крові практично втричі. У кожної другої дитини (54,1 ± 10,1 %) за наявності повільного характеру ацетилювання при фенотипі астми пізнього початку реєструвався знижений вміст CD8 (менше 18,0 Г/л), а в групі порівняння — тільки в 21,0 ± 9,3 % пацієнтів (P < 0,05).*
Висновки. *У більшості пацієнтів із повільним ацетиляторним фенотипом перебіг бронхіальної астми пізнього початку асоціюється зі зниженням вмісту CD3, CD4, CD8 у периферичній крові та В-лімфоцитів, що опосередковано свідчить про вираженість хронічного запального алергічного процесу в даної когорти осіб та виснаженість організму.*
Ключові слова: *бронхіальна астма, діти, ацетилювання, фенотипи, Т-лімфоцити, В-лімфоцити.*

Вступ

Бронхіальна астма (БА) — одне з найбільш поширених захворювань у світі, згідно з літературними даними, кількість хворих на неї постійно збільшується, особливо серед дитячого населення [10, 15, 16].

Відповідно до даних ВООЗ, поширеність бронхіальної астми серед дитячого населення становить 10 %. У різних регіонах України даний показник коливається від 5 до 9 % дитячої популяції [1]. Особливо гостро наразі стоїть питання досягнення такого рівня контролю, що дозволяв би дитині вести активне соціальне життя.

Вважають, що неефективність контролюючої терапії БА [2, 5, 9], що відмічається практично в половини хворих (40–60 % за даними різних авторів) [1], зумовлена, зокрема, наявністю різних астма-фенотипів [7, 13].

Призначаючи контролюючу терапію астми в дітей, необхідно враховувати особливість її фенотипу

Адреси для листування з авторами:
Марусик Уляна Іванівна
E-mail: sunocher@ukr.net
Безрукова Ірина Ушерівна
E-mail: ibezrukova50@mail.ru

© Марусик У.І., Безрукова І.У., 2016
© «Здоров'я дитини», 2016
© Заславський О.Ю., 2016

[3, 4], що визначається неоднорідними механізмами розвитку, проте практично однаковими клінічними симптомами [11].

Дослідження молекулярно-генетичних особливостей спадкової схильності до бронхіальної астми, що широко проводяться останнім часом, зосереджені в основному на виявленні ролі окремих генів та активності кодованих ними ферментів у патогенезі розвитку даного захворювання, а також в ефективності його терапії [4].

Ураховуючи дані літератури щодо асоціації бронхіальної астми з генетичним поліморфізмом N-ацетилтрансферази — ферменту, що визначає особливість метаболічних процесів [8], ми вважали за доцільне визначити особливості стану клітинної ланки імунітету в дітей, хворих на БА пізнього початку, з урахуванням їх ацетиляторних фенотипів.

Мета дослідження: для оптимізації контролю бронхіальної астми пізнього початку оцінити окремі показники клітинної ланки імунної системи в дітей шкільного віку з урахуванням ацетиляторних фенотипів.

Матеріали та методи

У пульмонологічному відділенні Обласної дитячої клінічної лікарні м. Чернівців у періоді ремісії комплексно обстежені 72 дитини шкільного віку, які хворіють на БА пізнього початку (захворювання вперше проявлялось у віці понад 6 років). За перебігом захворювання дітей розподіляли на дві клінічні групи. До першої клінічної групи увійшли 34 пацієнти, в яких визначали повільний тип ацетилювання (середній відсоток ацетильованого сульфадимезину в сечі становив менше 75 %). Другу клінічну групу сформували 38 школярів, у яких відмічався швидкий тип ацетилювання (середній відсоток ацетильованого сульфадимезину в сечі становив більше 75 %).

Першу клінічну групу сформували 21 хлопчик (61,8 %) та 13 дівчаток (38,2 %). До другої групи увійшло 25 хлопців (65,8 %, Рφ > 0,05) та 13 дівчаток (34,2 %, Рφ > 0,05). Середній вік хворих першої групи становив 13,8 ± 0,4 року, а школярів другої групи — 12,7 ± 0,4 року (Р > 0,05). До складу першої клінічної групи увійшли 70,6 % міських та 29,4 % сільських жителів. Другу групу сформували 25 мешканців міст і міських поселень (65,8 %) та 13 хворих (34,2 %, Рφ > 0,05), які проживають у селах.

Таким чином, за статтю, віком та місцем проживання клінічні групи порівняння вірогідно не відрізнялися.

Усім дітям проводили імунологічне дослідження крові II–III рівнів. Вміст Т-лімфоцитів (CD3), Т-хелперів (CD4), Т-кілерів/Т-супресорів крові (CD8) та В-лімфоцитів (CD) визначали методом імунофлуоресценції з використанням наборів моноклональних антитіл. Швидкість процесів ацетилювання досліджували за методом Пребстинг — Гаврилова в модифікації Тимофєєвої, зважаючи на те, що вона характеризувала особливості II фази системи біотрансформації ксенобіотиків.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики, використовуючи статистичну програму StatSoft Statistica v 5.0, та з позиції клінічної епідеміології з урахуванням атрибутивного (АР), відносного (ВР) ризиків та співвідношення шансів (СШ) із зазначенням 95% довірчого інтервалу (95% ДІ).

Результати

Порівняльний аналіз показників клітинної ланки імунітету в дітей із фенотипом БА пізнього початку за різної активності N-ацетилтрансферази показав, що в пацієнтів першої клінічної групи відмічено чітку тенденцію до зниження вмісту в периферичній крові Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій, функція яких асоціюється з хелперною/індукторною (рис. 1).

Водночас у більшої частини (66,6 %) дітей — повільних ацетиляторів відмічалося зниження вмісту CD3 у периферичній крові менше від 34,0 %, тоді як у другій групі такі показники траплялися лише в 42,1 % випадків (Рφ > 0,05). До того ж повільний тип ацетилювання у дітей, хворих на БА пізнього початку, асоціювався зі зниженням рівня CD3 у периферичній крові (менше 34,0 %) порівняно з групою швидких ацетиляторів так: відносний ризик — 1,7 (95% ДІ 1,3–2,2), атрибутивний ризик — 0,3 при співвідношенні шансів 2,7 (95% ДІ 1,5–4,8).

При аналізі середніх значень вмісту Т-лімфоцитів, функція яких асоціюється із цитотоксичною/супресорною, у групах порівняння виявили його вірогідне зниження в дітей із повільним типом ацетилювання при БА пізнього початку. Так, вміст CD8 у периферичній крові школярів першої клінічної групи становив 18,8 ± 1,9 Г/л на противагу 25,1 ± 2,2 Г/л (Р < 0,05) у пацієнтів — швидких ацетиляторів. Водночас у кожної другої дитини (54,1 ± 10,1 %) за повільного характеру ацетилювання при фенотипі БА пізнього початку реєструвався знижений вміст цитотоксичних супресорів (менше

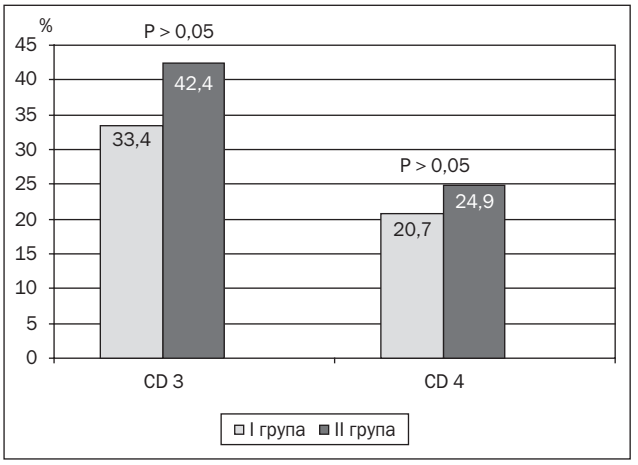

Рисунок 1. Відносний вміст імунокомпетентних лімфоцитів та їх субпопуляцій у дітей, хворих на БА пізнього початку, з різними ацетиляторними фенотипами

18,0 Г/л), а в обстежених групи порівняння — тільки у 21,0 ± 9,3 % пацієнтів (P < 0,05). Так, відносний ризик становив 1,9 (95% ДІ 1,3–2,2), атрибутивний ризик — 0,3.

Водночас відмічено, що ацетилювання повільного типу в пацієнтів із фенотипом БА пізнього початку майже в чотири рази збільшує ризик реєстрації зниженого вмісту CD8 у периферичній крові порівняно з пацієнтами другої групи, показник співвідношення шансів становив 4,4 (95% ДІ 2,3–8,2).

Виснаження організму за рахунок вираженої запальної відповіді підтверджується тенденцією до зниження вмісту CD22 у периферичній крові дітей — повільних ацетиляторів. Так, середній відсоток В-лімфоцитів у периферичній крові даної групи пацієнтів становив 17,8 ± 1,1 % та 21,0 ± 2,1 % (P > 0,05) в обстежених хворих на бронхіальну астму пізнього початку та зі швидким типом ацетиляторних процесів.

Незважаючи на те, що між групами не виявлено вірогідної відмінності за середніми показниками відносного вмісту В-лімфоцитів у периферичній крові, його значення, що не досягали 15,0 %, реєструвались у 16,6 % обстежених дітей першої групи та лише в 5,2 % осіб другої групи (Pφ > 0,05).

Наявність повільного ацетиляторного фенотипу у хворих на БА пізнього початку асоціювалася зі зменшенням до зазначеного вище вмісту CD22-клітин у периферичній крові так: атрибутивний ризик — 0,3, відносний ризик — 1,6 (95% ДІ 0,6–4,1) при співвідношенні шансів 3,6 (95% ДІ 1,3–10,1).

Обговорення

Порівняльний аналіз показників клітинної ланки імунітету в дітей із фенотипом БА пізнього початку за різної активності N-ацетилтрансферази не виявив вірогідних відмінностей вмісту в периферичній крові Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій, однак у більшої частини дітей — повільних ацетиляторів відмічалося зниження вмісту CD3 у периферичній крові менше від 34,0 %. До того ж ацетилювання повільного типу в дітей, хворих на БА пізнього початку, підвищувало ризик зниження рівня CD3 у периферичній крові практично втричі. На нашу думку, це пов'язано, ймовірно, із виснаженням організму за рахунок вираженішого запального процесу [12].

Вірогідне зниження вмісту Т-лімфоцитів, функція яких асоціюється з цитотоксичною/супресорною в периферичній крові дітей, хворих на бронхіальну астму пізнього початку із повільним типом ацетилювання, також, ймовірно, вказує на вираженішу запальну відповідь організму в даних пацієнтів та збігається з даними літератури [6].

Виснаження організму за рахунок вираженої запальної відповіді підтверджується тенденцією до зниження вмісту CD22 у периферичній крові дітей — повільних ацетиляторів.

Таким чином, у більшості пацієнтів із повільним ацетиляторним фенотипом перебіг бронхіальної астми пізнього початку асоціюється зі зниженням вмісту CD3, CD4, Т-лімфоцитів, функція яких асоціюється з цитотоксичною/супресорною у периферичній крові, та В-лімфоцитів, що опосередковано свідчить про вираженість хронічного запального алергічного процесу в даної когорти осіб та виснаженість організму, що, мабуть, пояснюється уповільненням темпів елімінації причинно-значимих тригерів.

Висновки

1. Наявність повільного типу ацетилювання в пацієнтів із бронхіальною астмою пізнього початку підвищує ризик зниженого вмісту CD4 у периферичній крові < 18,0 Г/л (співвідношення шансів — 4,4 (95% ДІ 2,3–8,2)).

2. За повільного ацетиляторного фенотипу при бронхіальній астмі пізнього початку зростає ризик реєстрації зниженого відносного вмісту CD22-клітин у периферичній крові менше від 15,0 % (співвідношення шансів — 3,6 (95% ДІ 1,3–10,1)).

3. Виявлені кількісні особливості в показниках клітинної ланки імунного захисту пов'язані з вираженішим алергічним запальним процесом, що вимагає персоналізації лікувальної тактики в даних пацієнтів з альтернативним ацетиляторним статусом.

Конфлікт інтересів. Автори даної роботи заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Список літератури

1. Гнатейко О.З. Деякі аспекти проблеми ранньої діагностики бронхіальної астми в дітей / О.З. Гнатейко, О.М. Садова // Здоровье ребенка. — 2009. — № 5(20). — С. 34-38.

2. Костроміна В.П. Фактори ризику астми у дітей / В.П. Костроміна, О.О. Речкіна, К.О. Мельник // Астма та алергія. — 2013. — № 2. — С. 21-24.

3. Лапшин В.Ф. Астма-фенотипы в детском возрасте / В.Ф. Лапшин, Т.Р. Уманец // Здоров'я України. — 2009. — № 4/1. — С. 12-14.

4. Поліморфізм ксенобіотиків метаболізму генів глутанін S-трансферази (GSTT1, GSTM1) та цитохрому P450 (CYP2E1 і CYP2C19) в пацієнтів з атопічною бронхіальною астмою / Е.Ю. Брагіна, М.Б. Фреідін, І.А. Тен та ін. // Бюлетень Сибірського відділення Російської Академії медичних наук. — 2005. — № 13. — С. 121-125.

5. Уманець Т.Р. Клініко-анамнестичні особливості фенотипів бронхіальної астми у дітей / Т.Р. Уманець // Перинатология и педиатрия — 2011 — № 2(46). — С. 69-71.

6. Association between the N-acetylation genetic polymorphism and bronchial asthma / M. Nacak, A.S. Aynacioglu, A. Filiz at al. // Br. J. Clin. Oharmacol. — 2002. — V. 54(6). — P. 671-674. — doi: 10.1046/j.1365-2125.2002.01670.x.

7. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome / J. Lotvall, C.A. Akdis, L.B. Bacharier et al. // J. Allergy Clin. immunol. — 2011. — V. 127, № 2. — P. 355-360. — doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.037.

8. Barta J. N-Acetyltransferases as markers for asthma and allergic / J. Barta, B. Ghosh // Atopic disorders current drug metabolism. — 2008. — V. 9, № 6. — P. 546-553.

9. Green R.H. Stability of inflammatory phenotypes in asthma / R.H. Green, I. Pavord // Thorax. — 2012. — № 67. — P. 665-667. — doi:10.1136/thoraxjnl-2012-201657.

10. Kim H.Y. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity / H.Y. Kim, R.H. DeKruyff, D.T. Umetsu // Nat. Immunol. — 2010. — V. 11(7). — P. 577-584. — doi: 10.1038/ni.1892.

11. Limited Short-term Steroid Responsiveness Is Associated With Thickening of Bronchial Basement Membrane in Severe Asthma / A. Bourdin, S. Kleis, M. Chakra et al. // Chest. — 2012. — № 141(6). — P. 1504-1511. — doi:10.1378/chest.11-0232.

12. Local and systemic immunological parameters assjciated with remission of asthma symptoms in children / S. Waserman, P. Nair, D. Snider at al. // Allergy, asthma and clinical immunology. — 2012. — V. 8, Is. 16. — P. 1-14.

13. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens / O.U. Soyer, M. Akdis, J. Ring at al. // Allergy. — 2013. — № 68. — P. 161-170. — doi: 10.1111/all.12085

14. The Heterogeneity of asthma phenotypes in children and young aduits / B. Hesselmar, A.-C. Enelund, B. Eriksson at al. // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. — 2012. — Article ID 163089. — P. 6.

15. World Health Organization. Bronchial asthma. Fact Sheet NE 307. — Geneva: World Health Organization, 2008.

16. Yang I.V. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airway disease / I.V. Yang // Breath. — 2014. — V. 10, № 1. — P. 25-31.

Отримано 29.02.16

Марусик У.И., Безрукова И.У.[1]
Высшее учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина
[1]Областная детская клиническая больница, г. Черновцы, Украина

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОГО ОТВЕТА ШКОЛЬНИКОВ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПОЗДНЕГО НАЧАЛА, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЦЕТИЛЯТОРНОГО ПОЛИМОРФИЗМА

Актуальность. Бронхиальная астма — одно из самых распространенных заболеваний в мире, количество больных которым постоянно увеличивается, особенно среди детей. Считают, что неэффективность контролирующей терапии астмы, которая отмечается практически у половины больных, обусловлена, в частности, наличием различных астма-фенотипов. **Цель исследования:** для оптимизации контроля астмы позднего начала оценить отдельные показатели клеточного звена иммунной системы у школьников с учетом ацетиляторных фенотипов.

Материал и методы. В пульмонологическом отделении Областной детской клинической больницы г. Черновцов обследованы 72 школьника, больных астмой позднего начала (заболевание впервые проявлялось в возрасте старше 6 лет). В зависимости от течения заболевания детей распределяли в две клинические группы. В первую группу вошли 34 пациента, у которых определяли медленный тип ацетилирования (средний процент ацетилированного сульфадимезина в моче составлял менее 75,0 %). Вторую клиническую группу сформировали 38 школьников, у которых отмечался быстрый тип ацетилирования (средний процент ацетилированного сульфадимезина в моче составлял более 75,0 %). Всем детям методом иммунофлуоресценции с использованием наборов моноклональных антител определяли содержание Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-киллеров/Т-супрессоров и В-лимфоцитов крови.

Результаты. Ацетилирование медленного типа у детей, больных бронхиальной астмой позднего начала, повышало риск снижения уровня CD3 в периферической крови практически втрое. У каждого второго ребенка (54,1 ± 10,1 %) при наличии медленного характера ацетилирования при фенотипе астмы позднего начала регистрировалось сниженное содержание CD8 (менее 18,0 г/л), а в группе сравнения — только у 21,0 ± 9,3 % пациентов ($P < 0,05$).

Заключение. У большинства пациентов с медленным ацетиляторным фенотипом течение бронхиальной астмы позднего начала ассоциируется со снижением содержания CD3, CD4, CD8 в периферической крови и В-лимфоцитов, что косвенно свидетельствует о выраженности хронического воспалительного аллергического процесса в данной когорте лиц и истощении организма.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, ацетилирование, фенотипы, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Marusyk U.I., Bezrukov I.U.[1]
Higher Education Institution of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi
[1]Regional Children Clinical Hospital, Chernivtsi, Ukraine

FEATURES OF CELLULAR LINK OF IMMUNE RESPONSE IN SCHOOL-AGE CHILDREN WITH LATE-ONSET ASTHMA DEPENDING ON ACETYLATION POLYMORPHISM

Summary. Background. Bronchial asthma is one of the most common diseases in the world, the number of patients with this disease is increasing, especially among children. They believe that the inefficiency of controlling asthma therapy, which is observed in almost half of patients, is due particularly to the presence of different asthma-phenotypes.

Objective. To evaluate some indicators of cellular parts of the immune system in schoolchildren, considering acetylation phenotypes in order to optimize asthma control late-onset asthma.

Materials and methods. In pulmonology unit of Chernivtsi Regional Child Clinical Hospital there were examined 72 schoolchildren with late-onset asthma (disease first manifested at the age of 6 years old). By the course of the disease children were divided into two clinical groups. The first group included 34 patients with slow type of acetylation (mean percentage of acetylated sulfadimidine in urine was less than 75.0 %). The second clinical group was formed by 38 students with fast type of acetylation (mean percentage of acetylated sulfadimedin in urine was more than 75.0 %).

Blood T-lymphocytes, T-helper cells and T killer/suppressor and B-lymphocytes were tested in all children by immunofluorescent assay method using a set of monoclonal antibodies.

Results. The slow type of acetylation in children with late-onset asthma almost triple increased risk of CD3 decline in peripheral blood. Every second child (54.1 ± 10.1 %) with the slow type of acetylation and late-onset asthma had reduced CD8 level (less than 18.0 g/l), while in the comparison group only 21.0 ± 9.3 % of patients had decreased concentration ($P < 0.05$).

Conclusion. In the most patients with slow type of acetylation course of late-onset asthma was associated with a decrease in CD3, CD4, CD8 levels in peripheral blood and B-lymphocytes, that indirectly indicates the severity of chronic inflammatory allergic process in this cohort of persons and the exhaustion of the body.

Key words: bronchial asthma, children, acetylation, phenotypes, T-lymphocytes, B-lymphocytes.