

ПОКАЗНИКИ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ТА ЕОЗИНОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ У ДІТЕЙ ЗА ТЯЖКОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ АЦЕТИЛЮВАННЯ

Тарнавська С.І.

Буковинський державний медичний університет

Проведення комплексного клінічно-параклінічного обстеження 53 дітей, хворих на тяжку бронхіальну астму, дозволило встановити, що для пацієнтів із повільним ацетиляторним статусом був характерний нейтрофільний паттерн запалення дихальних шляхів, що підтверджувала наявність позитивних вірогідних зв'язків результатів спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів крові із клінічними ознаками тяжкості обструкції бронхів ($r=0,5$; $p<0,05$), ознаками інтоксикації ($r=0,4$; $p<0,05$) та виразністю лихоманки ($r=0,4$; $p<0,05$) у даних хворих. Натомість у дітей зі швидким типом ацетилювання фенотип тяжкої астми асоціював із переважанням еозинофільного паттерну запалення, що характеризувався наявністю в цих пацієнтів вірогідного позитивного зв'язку показників спонтанного та стимульованого НСТ-тесту еозинофілів із результатами бронхомоторної проби з β_2 -адреноміметиком на рівні дрібних бронхів ($r=0,5$; $p<0,05$).

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, тип ацетилювання, еозинофіли, нейтрофіли.

Актуальність теми. Дослідження патогенетичних механізмів розвитку тяжкої астми є надзвичайно актуальними сьогодні, оскільки допоможе оптимізувати вибір обсягу протизапальної терапії для досягнення контролю над хворобою в даній складній групі пацієнтів [2, с. 173].

Ряд авторів пов'язує розвиток тяжкої астми із залученням нейтрофільних гранулоцитів крові до реалізації запального процесу дихальних шляхів, інші наголошують на переважно еозинофільному варіанті запалення бронхів [7, с. 143]. Встановлено, що еозинофільний варіант запалення визначається в когорті дітей, у яких основними чинниками поганого контролю захворювання є низька прихильність до лікування, надмірний вплив алергену, проте має місце їх модифікація. Тому застосування протизапальної терапії, яка впливає виключно на еозинофільний характер запалення завершилося обмеженим успіхом, що дає можливість припустити існування складніших відносин між еозинофілами та розвитком бронхіальної астми в дітей [4, с. 175].

Наразі відомо, що за тяжкої астми, характер запального фенотипу з огляду на показники індукованого харкотиння не є сталим. Існують труднощі в інтерпретації результатів цитологічного дослідження індукованого мокротиння у хворих на БА дітей, оскільки дані щодо нормативних показників цитологічного складу бронхіального секрету в дитячій популяції обмежені та суперечливі [3, с. 193].

Виходячи з наведеного вище, вважали доцільним оцінити імунологічні особливості перебігу тяжкої БА у дітей із урахуванням індивідуальних генетичних особливостей організму та, зокрема, ацетиляторного фенотипу, з метою виявлення механізмів запалення дихальних шляхів для подальшої розробки диференційованих підходів до лікування даної патології.

Мета роботи. З метою оптимізації комплексного лікування дітей, хворих на бронхіальну астму, ретроспективно дослідити імунологічні особливості фенотипу тяжкої астми залежно від характеру ацетилювання.

Матеріали і методи дослідження. Для досягнення поставленої мети проведено комплексне клінічно-імунологічне обстеження I-II рівня 53 дітей, в яких визначався тяжкий персистувальний перебіг бронхіальної астми. Вивчалися показники клітинного та гуморального імунітету, вміст у периферичній крові Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій, у сироватці крові – рівень імуноглобулінів класів А, М, G, E, інтерлейкіну-4,-5,-8. Визначали генетичний маркер – тип ацетилювання за методом Пребстинг-Гаврилова в модифікації Тимофеевої, що характеризував особливості II фази системи біотрансформації ксенобіотиків.

Сформовано 2 клінічні групи: I група – 26 дітей з повільним типом ацетилювання (середній вік – $13,2\pm 0,5$ роки, частка хлопчиків – 57,6%), II група – 27 пацієнтів зі швидким ацетиляторним фенотипом (середній вік – $12,2\pm 0,6$ роки ($p>0,05$); частка хлопчиків – 70,3% ($p>0,05$)). За основними клінічними ознаками групи спостереження були зіставлюваними.

Одержані результати дослідження аналізували з позицій біостатистики та клінічної епідеміології за допомогою комп'ютерних пакетів «Statistica7» StatSoft Inc. та Excel XP для Windows, різницю показників вважали статистично значущою за $p<0,05$. Відбір та обстеження пацієнтів відповідали принципам біомедичної етики в педіатрії.

Результати дослідження та їх обговорення. За даними літератури відомо, що в основі різних фенотипів та субтипів бронхіальної астми, які зумовлюють різноманіття клінічних проявів та реактивність дихальних шляхів при БА, лежить їх хронічне запалення. Наразі з'ясовані механізми розвитку запального процесу бронхів, які реалізуються за участі як еозинофільних, так і нейтрофільних лейкоцитів крові [8, с. 567]. Виходячи з цього, представлялося доцільним оцінити вміст лейкоцитів та їх співвідношення у периферійній крові як показник запальної відповіді організму (табл. 1).

Враховуючи отримані дані встановлено, що у хворих на тяжку бронхіальну астму за повільного ацетиляторного фенотипу наявне вірогідне переважан-

Таблиця 1

Показники лейкограми периферійної крові в клінічних групах спостереження (M±m)

Клінічні групи	Кількість дітей	ШЗЕ, мм/год	Лейкоцити, Г/л	Лейкограма, %				
				Еозинофіли	Нейтрофіли		Лімфоцити	Моноцити
					Паличкоядерні	Сегментоядерні		
I	26	5,5±0,4	7,8±0,5	8,3±1,1	7,3±1,1	43,5±2,8	38,3±2,8	2,4±0,3
II	27	5,4±0,4	6,0±0,3	6,2±1,1	7,8±1,0	49,6±2,5	34,5±2,4	1,7±0,1
P		>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05

Таблиця 2

Показники НСТ-тесту нейтрофілів крові в дітей груп порівняння (M±m)

Клінічні групи	Кількість дітей	Показники НСТ-тесту			
		Спонтанний		Стимульований	
		% формазан-позитивних клітин	ЦХК, ум.од.	% формазан-позитивних клітин	ЦХК, ум.од.
I	26	26,9±3,1	0,31±0,05	38,8±3,6	0,45±0,05
II	27	33,5±3,21	0,38±0,04	40,8±4,1	0,48±0,05
P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Таблиця 3

Показники НСТ-тесту еозинофільних гранулоцитів крові в дітей груп порівняння (M±m)

Клінічні групи	Кількість дітей	Показники НСТ-тесту			
		Спонтанного		Стимульованого	
		% формазан-позитивних клітин	ЦХК, ум.од.	% формазан-позитивних клітин	ЦХК, ум.од.
I	26	18,1±2,3	0,21±0,03	20,2±2,7	0,23±0,04
II	27	16,1±1,6	0,18±0,03	16,4±1,6	0,18±0,03
P		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

ная абсолютного вмісту лейкоцитів крові та відносного вмісту моноцитів периферійної крові. Показники ризику збільшення абсолютного вмісту лейкоцитів у периферійній крові понад 7,8 Г/л у дітей за фенотипу тяжкої астми та повільним типом ацетилювання порівняно зі швидкими «ацетиляторами» становили: відносний ризик (ВР) – 1,9 [95% ДІ: 1,1-3,2] при співвідношенні шансів (СШ) – 4,6 [95%ДІ: 2,3-9,2]. Дані результати співпали з думкою деяких авторів, щодо асоціації поліморфізму рецепторів моноцитів крові із ризиком розвитку середньотяжкої та тяжкої бронхіальної астми згідно «гігієнічної гіпотези» [6, с. 20].

Водночас, відмінностей щодо вмісту у периферійній крові інших клітин, які беруть участь у розвитку запального процесу дихальних шляхів, зокрема – еозинофільних гранулоцитів між групами порівняння не виявлено. У II-й клінічній групі відмічалася тенденція до переважання еозинофільного паттерну запальної відповіді, що визначалася відносним вмістом еозинофільних гранулоцитів крові більше 5% майже у 63,7% дітей на противагу 57,7% пацієнтів групи порівняння (P>0,05). Показники ризику збільшення відносного вмісту еозинофільних гранулоцитів крові понад 10% у дітей з фенотипом тяжкої астми та швидким ацетиляторним статусом порівняно до повільних «ацетиляторів» становили: ВР – 1,6 [95%ДІ:1,1-2,0] при СШ – 1,8 [95%ДІ:0,9-3,4]. Отримані результати узгоджуються з думкою, що підвищення вмісту еозинофілів крові може віддзеркалювати наявність еозинофілії дихальних шляхів і, водночас, не суперечать відомостям, що нормальні показники крові не можуть остаточно виключити еозинофілію дихальних шляхів [4, с. 46].

Подальший аналіз функціональної активності ефекторних клітин запалення – еозинофільних та нейтрофільних гранулоцитів крові у пацієнтів груп порівняння проводили за показниками киснезалежного метаболізму даних лейкоцитів за результатами тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест) (табл. 2).

Попри відсутність вірогідної різниці у показниках функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів крові у пацієнтів груп порівняння, проведений корелятивний аналіз дозволив встановити позитивний вірогідний зв'язок показників спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів крові та клінічних ознак тяжкості обструкції бронхів (r=0,5;p<0,05), інтоксикації (r=0,4;p<0,05) та виразності лихоманки (r=0,4;p<0,05) у дітей за повільного ацетиляторного статусу. У пацієнтів зі швидким типом ацетилювання, натомість, встановлено зворотній вірогідний кореляційний зв'язок показників спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів крові та показників індексу брон-

хоспазму на фізичне навантаження на рівні дрібних бронхів (r=-0,4;p<0,05).

Водночас між групами порівняння за показниками індексу стимуляції НСТ-тесту нейтрофілів не виявлено вірогідної різниці, оскільки середні значення цього показника становили 1,38±0,17 ум.од. у пацієнтів I групи, а хворих групи порівняння – 1,34±0,14 ум.од. (P>0,05).

Отримані результати збігаються із даними літератури [9, с. 704] щодо фенотипу тяжкої нейтрофільної БА в дитячому віці, за якого провідне місце у реалізації хвороби посідають інфекційні чинники, а функціональна активність нейтрофілів крові пов'язана із виразнішими ознаками обструкції бронхів, що має місце у хворих за повільного типу ацетилювання [1, с. 35]. Натомість у пацієнтів зі швидким ацетиляторним фенотипом залучення нейтрофільних гранулоцитів крові до розвитку запального процесу дихальних шляхів є менш виразним.

Проведене дослідження метаболічної активності еозинофільних лейкоцитів крові за даними НСТ-тесту в спонтанному та стимульованому варіантах, результати якого наведені у таблиці 3.

Виходячи з отриманих даних вірогідної різниці щодо функціональної активності еозинофільних гранулоцитів крові у групах порівняння не виявлено. Водночас, кореляційний аналіз дозволив встановити зворотній вірогідний зв'язок показників спонтанного та стимульованого НСТ-тесту еозинофілів крові із клінічними ознаками тяжкості обструкції бронхів (r=-0,5; p<0,05) у дітей за повільного типу ацетилювання та позитивний – із показниками бронхомоторної проби з β₂-адреноміметиком на рівні дрібних бронхів (r=0,5; p<0,05) за наявності швидкого ацетиляторного фенотипу.

Разом із тим, за показниками індексу стимуляції НСТ-тесту еозинофілів не виявлено вірогідної різниці між групами порівняння. Так, середні значення даного показника становили 1,04±0,09 ум.од. у пацієнтів I групи, а хворих групи порівняння – 1,2±0,16 ум.од. (P<0,05).

Узагальнюючи наведено вище, можна припустити, що реалізація запальної відповіді при фенотипі тяжкої астми в дітей за наявності швидкого типу ацетилювання відбувається за участі еозинофільних гранулоцитів крові, а в пацієнтів з повільним ацетиляторним статусом – переважає нейтрофільний паттерн запалення бронхів.

Висновки. 1. У дітей з фенотипом тяжкої астми та повільним ацетиляторним статусом відзначався вірогідно вищий вміст лейкоцитів та моноцитів крові порівняно зі швидкими «ацетиляторами».

2. Переважання нейтрофільного характеру запалення дихальних шляхів у пацієнтів з тяжкою астмою та повільним типом ацетилювання підтверджує наявність позитивних вірогідних зв'язків показників спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів крові із клінічними ознаками тяжкості обструкції бронхів ($r=0,5; p<0,05$), ознаками інтоксикації ($r=0,4; p<0,05$) та виразністю лихоманки ($r=0,4; p<0,05$).

3. У пацієнтів зі швидким типом ацетилювання тяжкий персистувальний перебіг астми асоціює з розвитком еозинофільного паттерну запалення дихальних шляхів, що супроводжується вірогідним позитивним зв'язком результатів спонтанного та стимульованого НСТ-тесту еозинофілів – із показниками бронхомоторної проби з β_2 -адреноміметиком на рівні дрібних бронхів ($r=0,5; p<0,05$).

Список літератури:

1. Колоскова О. К. Фенотипові особливості бронхіальної астми в дітей залежно від ацетиляторного статусу / О. К. Колоскова, С. І. Тарнавська, Н. К. Богуцька, О. О. Шахова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – № 3(13). – С. 35-37.
2. Custovic A. Pediatric Asthma and Development of Atopy / A. Custovic, N. Lazic, A. Simpson // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. – 2013. – Vol. 13, № 2. – P. 173-180.
3. Fleming L. Use of Sputum Eosinophil Counts to Guide Management in Children With Severe Asthma / L. Fleming, N. Wilson, N. Regamey, A. Bush // Thorax. – 2012. – Vol. 67, № 3. – P. 193-198.
4. Green R. H. Stability of inflammatory phenotypes in asthma / R. H. Green, I. Pavord // Thorax. – 2012. – № 2. – P. 46-57.
5. Hedlin G. An update on paediatric asthma / G. Hedlin, J. Konradsen, A. Bush // Eur. Respir. Rev. – 2012. – V. 21(125). – P. 175-185.
6. Şahin F. The Effect of CD14 and TLR4 Gene Polimorphisms on Asthma Phenotypes in Adult Turkish Asthma Patients: A Genetic Study / F. Şahin, P. Yıldız, A. Kuskucu [et al.] // BMC Pulm. Med. – 2014. – Vol. 14. – P. 20-28.
7. Saglani S. Eosinophils in the Pathogenesis of Paediatric Severe Asthma / S. Saglani, C. M. Lloyd // Curr Opin Allergy Clin Immunol. – 2014. – Vol. 14, № 2. – P. 143-148.
8. Wang F. Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma / F. Wang, X. Y. He, K. J. Baines [et al.] // Eur. Respir. J. – 2011. – Vol. 38. – P. 567-574.
9. Yasui K. Neutrophilic inflammation in childhood bronchial asthma / K. Yasui, N. Kobayashi, T. Yamazaki, K. Koike [et al.] // Thorax. – 2005. – Vol. 60. – P. 704-705.

Тарнавская С.И.

Буковинский государственный медицинский университет

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ И ЭОЗИНОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА АЦЕТИЛИРОВАНИЯ

Аннотация

Проведение комплексного клинико-параклинического обследования 53 детей, больных тяжелой бронхиальной астмой, позволило установить, что для пациентов с медленным ацетиляторным статусом был характерен нейтрофильный паттерн воспаления дыхательных путей, о чем свидетельствовало наличие положительных достоверных связей результатов спонтанного НСТ-теста нейтрофилов крови с клиническими признаками тяжести обструкции бронхов ($r=0,5; p<0,05$), признаками интоксикации ($r=0,4; p<0,05$) и выраженностью лихорадки ($r=0,4; p<0,05$) у данных больных. В тоже время у детей с быстрым типом ацетилювания фенотип тяжелой астмы ассоциировал с преобладанием эозинофильного паттерна воспаления, характеризовался наличием у этих пациентов достоверных положительных связей показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста эозинофилов крови с результатами бронхомоторной пробы с β_2 -адреноміметиками на уровне мелких бронхов ($r = 0,5; p < 0,05$).

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, тип ацетилювания, эозинофилы, нейтрофилы.

Tarnavska S.I.

Bukovinian State Medical University

INDICATORS OF ACTIVITY NEUTROPHIL AND EOSINOPHIL BLOOD GRANULOCYTE IN CHILDREN WITH SEVERE ASTHMA DEPENDING ON THE TYPE OF ACETYLTATION

Summary

Comprehensive clinical and paraclinical examination of 53 children with severe asthma, revealed that patients with slow acetylation status was typical pattern neutrophilic airway inflammation, which confirmed the presence of positive relationships probable results of spontaneous NBT test neutrophils with clinical signs of bronchial obstruction severity ($r=0,5; p<0,05$), signs of intoxication ($r=0,4; p<0,05$) and the severity of fever ($r=0,4; p<0,05$) in these patients. However, in children with type fast acetylation phenotype of severe asthma associate with a predominance of eosinophilic inflammation pattern that characterized the presence of these patients likely positive communication parameters of spontaneous and stimulated NBT-test results of eosinophils with bronhomotor tests results with β_2 -agonists at the level of small bronchi ($r=0,5, p<0,05$).

Keywords: bronchial asthma, children, type of acetylation, eosinophils, neutrophils.