

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ШКОЛЯРІВ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ РАНЬОГО ПОЧАТКУ, ЗАЛЕЖНО ВІД АЦЕТИЛЯТОРНОГО СТАТУСУ

Марусик У.І., Крецу Н.М., Белашова О.В.

Буковинський державний медичний університет

Проведене комплексне обстеження 34 дітей шкільного віку, що хворіють на БА раннього початку (захворювання вперше проявлялось в ранньому віці). За ацетиляторним фенотипом хворих розподіляли на дві клінічні групи. До першої клінічної групи увійшли 16 пацієнтів, у яких визначали повільний тип ацетилювання. Другу клінічну групу сформували 18 школярів, у яких відмічався швидкий тип ацетилювання. Усім дітям проводили імунологічне дослідження крові II–III рівнів. В результаті проведених досліджень встановлено, що повільний тип ацетилювання у пацієнтів із фенотипом бронхіальної астми раннього початку підвищує ризик зниження вмісту CD-8 у периферичній крові менше 20,0% практично у 5 разів, відносний ризик виснаження киснезалежного метаболізму еозинофілів периферичної крові у 3,1 разу та ризик реестрації підвищеної фагоцитарної активності еозинофілів крові, більше 60,0% (СПШ – 6,2), що пов'язане з atopічним запальним процесом організму та дозволяє персоналізувати лікувальну тактику в даних пацієнтів.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, діти, ацетилювання, фенотипи, нейтрофіли, еозинофіли.

**Постановка проблеми.** Бронхіальна астма (БА) – одне з найбільш поширених захворювань у світі, згідно літературних даних, кількість хворих повсякчас збільшується, особливо серед дитячого населення [1, 2, 3].

На сьогодні алергічні захворювання є глобальною проблемою з якою пов'язані значні медико-соціальні та економічні затрати в світі. Алергічні реакції рееструються більш ніж у 50% населення Європи, з них більше 30% – у дітей. При цьому, бронхіальна астма відмічається у 5-10% випадків. Серед 15 млн інвалідів у світі частка хворих на бронхіальну астму становить 1%, тобто це захворювання посідає 4-те місце у структурі причин інвалідизації дітей віком від 10 до 14 років [4].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Одним із найактуальніших питань дитячої астмології до нині залишається оптимізація фармакотерапії, метою якої є досягнення повного контролю симптомів БА та профілактика її загострень при використанні найменшої кількості медикаментів [5] з мінімальними побічними ефектами лікування [6].

Відомо, що БА належить до мультифакторних захворювань, етіології і патогенез яких визначаються складною взаємодією генетичних чинників і факторів навколишнього середовища [7]. Дослідження молекулярно-генетичних особливостей спадкової схильності бронхіальної астми, які широко проводяться останнім часом, зосереджені, в основному, на виявленні ролі окремих генів та кодованих ними ферментів у патогенезі розвитку даного захворювання, а також в ефективності його терапії [8].

Згідно даних літератури встановлено, що саме поліморфізм генів, які кодують ферменти другої фази детоксикації ксенобіотиків, впливає на функціональність даних ферментів та підвищує генетичну схильність до окислювального стресу та БА [9].

**Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми.** Враховуючи дані літератури про асоціацію тяжкої бронхіальної астми з генетичним поліморфізмом N-ацетилтрансферази – ферменту, що визначає особливість метаболіч-

них процесів [10], нами вважалось за доцільне оцінити особливості імунної відповіді у дітей, хворих на БА раннього початку, з урахуванням їх ацетиляторних фенотипів.

**Мета статті.** Оцінити окремі імунологічні показники у дітей шкільного віку, хворих на бронхіальну астму раннього початку, з урахуванням ацетиляторних фенотипів для покращення результатів лікування.

**Виклад основного матеріалу дослідження. Матеріал та методи дослідження.** В пульмонологічному відділенні Обласної дитячої клінічної лікарні м. Чернівці у періоді ремісії комплексно обстежено 34 дитини шкільного віку, що хворіють на БА раннього початку (захворювання вперше проявлялось в ранньому віці). За перебігом захворювання хворих розподіляли на дві клінічні групи. До першої (I) клінічної групи увійшли 16 пацієнтів, у яких визначали повільний тип ацетилювання (середній відсоток ацетилюваного сульфадимезину в сечі становив менше 75,0%). Другу (II) клінічну групу сформували 18 школярів, у яких відмічався швидкий характер ацетилювання (середній відсоток ацетилюваного сульфадимезину в сечі становив більше 75,0%). За основними клінічними ознаками групи порівняння були співставленими.

Першу клінічну групу сформували 11 хлопчиків (68,7%) та 5 дівчаток (31,3%). До другої групи увійшло 13 хлопців (72,2%,  $P > 0,05$ ) та 5 дівчат (27,8%,  $P > 0,05$ ). Середній вік хворих I групи становив  $12,0 \pm 0,7$  року, а школярів II групи –  $11,4 \pm 0,7$  року ( $P > 0,05$ ). До складу першої клінічної групи увійшли 50,0% міських та сільських жителів. Другу групу сформували 12 осіб (66,6%) мешканців міст і міських поселень та 6 хворих (33,4%,  $P > 0,05$ ), які проживають у селах.

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

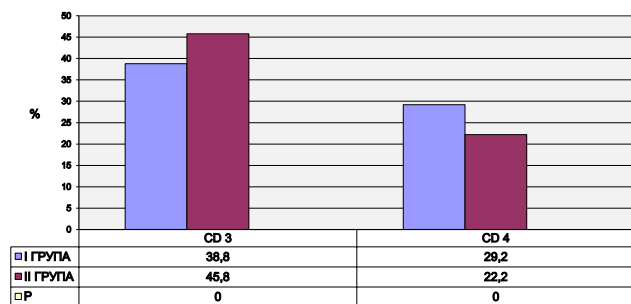
Усім дітям проводили імунологічне дослідження крові II–III рівнів. Вміст Т-лімфоцитів ( $CD_3$ ), Т-хелперів ( $CD_4$ ), Т-кілерів/супресорів крові ( $CD_8$ ) та В-лімфоцитів ( $CD_{22}$ ) визначали

методом імунофлуоресценції з використанням наборів моноклональних антитіл. Як показники функціонального стану еозинофільних лейкоцитів, визначали їх фагоцитарну активність (ФА, %) та фагоцитарне число (ФЧ, у.о.) за методом Мосягіної Є.Н. [11]. Активність киснезалежного метаболізму еозинофільних та нейтрофільних гранулоцитів крові проводили шляхом обчислення відсоткового вмісту формазанпозитивних клітин у НСТ-тесті (спонтанний та стимульований варіант), із урахуванням величини цитохімічного коефіцієнта (ЦХК, у.о.), визначеного за принципом Astaldi G., Verga L [12].

Швидкість процесів ацетилювання які характеризували особливості II фази системи біотрансформації ксенобіотиків досліджували за методом Пребстинг-Гаврилова в модифікації Тимофеевої.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики, використовуючи статистичну програму StatSoft Statistica v5.0., та з позиції клінічної епідеміології з урахуванням абсолютного (АР), відносного (ВР) ризиків та співвідношення шансів (СП) із зазначенням 95% довірчого інтервалу (95% ДІ).

**Результати дослідження та обговорення.** Порівняльний аналіз показників клітинної ланки імунітету в дітей із фенотипом БА раннього початку за різної активності N-ацетилтрансферази показав, що у пацієнтів першої клінічної групи відмічено чітку тенденцію до зниження вмісту у периферичній крові CD-3 та підвищення T-лімфоцитів, функція яких асоціює із хелперною/індукторною (рис. 1).



**Рис. 1.** Відносний вміст імунокомпетентних лімфоцитів та їх субпопуляцій у дітей хворих на БА раннього початку з різними ацетиляторними фенотипами

У більшості (66,6%) дітей – «повільних ацетиляторів» відмічалось зниження відносного вмісту CD-3 у периферичній крові менше 35,0%, тоді як у другій групі такі показники траплялися лише у 20,0% випадків ( $P < 0,05$ ). На нашу думку, це, ймовірно, пов'язано з виснаженням організму за рахунок виразнішого запального процесу [13].

Аналізуючи середні значення вмісту T-лімфоцитів, функція яких асоціює з цитотоксичною/супресорною, у групах порівняння виявлено чітку тенденцію до його зниження у дітей з повільним типом ацетилювання при БА раннього початку. Так, відносний вміст CD-8 у периферичній крові школярів першої клінічної групи становив  $20,1 \pm 1,9\%$  на противагу  $24,5 \pm 3,1\%$  ( $P < 0,05$ ) у пацієнтів – «швидких ацетиляторів». Водночас, у кожній другій дитини (55,5%) за повільного характеру ацетилювання при феноти-

пі БА раннього початку реєструвався знижений вміст цитотоксичних супресорів (менше 20,0%), а у обстежених групи порівняння – тільки у 20,0% пацієнтів ( $P < 0,05$ ).

Знижений до зазначеного показника вміст CD 8-лімфоцитів у периферичній крові асоціював із ризиком наявності повільного ацетиляторного статусу у дітей хворих на БА раннього початку наступним чином: атрибутивний ризик – 0,4, відносний ризик дорівнював 2,1 (95%ДІ: 1,3-3,1) при співвідношенні шансів – 4,9 (95%ДІ: 2,6-9,3).

Вірогідне зниження вмісту T-лімфоцитів, функція яких асоціює з цитотоксичною/супресорною у периферичній крові дітей, хворих на бронхіальну астму раннього початку із повільним типом ацетилювання, вказує, ймовірно, на виразнішу запальну відповідь організму у даних пацієнтів та співпадає з даними літератури [14].

Виснаження організму за рахунок виразної запальної відповіді підтверджується тенденцією до зниження вмісту CD-22 у периферичній крові дітей – «повільних ацетиляторів». Так, середній відсоток B-лімфоцитів у периферичній крові нижче 23,0%, реєструвався у 83,3% обстежених дітей першої групи та лише у 60,0% осіб другої групи ( $P < 0,05$ ).

Враховуючи літературні дані які вказують на провідну роль еозинофільних та нейтрофільних гранулоцитів крові в реалізації алергічного запалення [15, 16], вважалося за доцільне вивчення показників метаболічної активності даних лейкоцитів у хворих на БА раннього початку з урахуванням ацетиляторних фенотипів.

При аналізі показників киснезалежної метаболічної активності нейтрофільних гранулоцитів крові за даними НСТ-тесту не виявлено вірогідних відмінностей між групами порівняння (табл. 1).

**Таблиця 1**  
**Показники НСТ-тесту нейтрофільних гранулоцитів крові в дітей груп порівняння (M±m)**

Клінічні групи	К-сть дітей	Показники НСТ-тесту			
		Спонтанного		Стимульованого	
		% формазанпозитивних клітин	ЦХК, у.о.	% формазанпозитивних клітин	ЦХК, у.о.
I	16	27,7±2,8	0,33±0,18	43,2±4,5	0,53±0,12
II	18	32,1±3,5	0,36±0,16	38,8±6,3	0,47±0,18
P: I: II		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

При визначенні результатів киснезалежного метаболізму еозинофільних лейкоцитів крові між групами порівняння виявлено вірогідні відмінності за показниками спонтанного тесту з нітросинім тетразолієм (табл. 2).

Отже, як видно з наведених вище даних, у дітей, хворих на БА раннього початку за повільного типу ацетилювання, простежувалася чітка тенденція до зниження активності киснезалежного метаболізму еозинофілів крові відносно пацієнтів зі швидким ацетиляторним статусом. Отримані дані можуть свідчити про метаболічну виснаженість еозинофільних гранулоцитів крові за наявності фенотипу «повільних ацетиляторів» у дітей, хворих на БА раннього початку. Водно-

час, рівень НСТ-тесту еозинофільних лейкоцитів крові менше 16% відмічався у  $68,7 \pm 11,6\%$  хворих основної групи та лише у  $16,6 \pm 8,7\%$  дітей групи порівняння ( $p < 0,05$ ). Отже, за повільного ацетиляторного фенотипу підвищувався відносний ризик виснаження киснезалежного метаболізму еозинофілів периферичної крові у 3,1 разу [95% ДІ:1,8-4,6] при співвідношенні шансів – 11,1 [95% ДІ:5,6-21,6]. Представлені результати пов'язані, ймовірно, з більш активним залученням еозинофільних гранулоцитів крові у реалізацію запалення при БА за наявності повільного ацетиляторного фенотипу.

Таблиця 2

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

Клінічні групи	К-сть дітей	Показники НСТ-тесту			
		Спонтанного		Стимульованого	
		% формазан-позитивних клітин	ЦХК, у.о.	% формазан-позитивних клітин	ЦХК, у.о.
I	16	$16,8 \pm 3,1$	$0,24 \pm 0,17$	$18,5 \pm 2,3$	$0,21 \pm 0,11$
II	18	$24,1 \pm 1,8$	$0,27 \pm 0,13$	$21,1 \pm 4,3$	$0,22 \pm 0,12$
P: I: II		$<0,05$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$

При проведенні оцінки фагоцитарної активності еозинофільних гранулоцитів крові виявлені вірогідні відмінності між групами порівняння. Так, у хворих основної групи середній показник ФА еозинофілів крові становив  $68,1 \pm 2,8\%$ , а у пацієнтів «швидких ацетиляторів» –  $57,2 \pm 2,4\%$  ( $p < 0,05$ ), рівень ФЧ даних клітин сягав  $2,6 \pm 0,6$  у.о. та  $1,6 \pm 0,9$  у.о. відповідно ( $p > 0,05$ ). ФА еозинофільних лейкоцитів крові, яка перевищувала 60,0%, відмічалась у  $83,3 \pm 9,3\%$  дітей із повільним типом ацетилювання та у  $44,4 \pm 11,7\%$  хворих із швидким ацетиляторним статусом ( $p < 0,05$ ). Показники ризику підвищеної фагоцитарної активності провідних ефекторних клітин алергічного запалення – еозинофілів крові, більше 60,0% за наявності повільного типу ацетилювання відносно «швидких ацетиляторів» склали: відносний ризик – 2,8 [95% ДІ:2,2-3,5] при співвідношенні шансів – 6,2 [95% ДІ:3,2- 12,1]. Отримані дані зумовлені, ймовірно,

превалюванням еозинофільного варіанту запалення при БА раннього початку за наявності повільного типу ацетилювання, що дозволяє використовувати їх при розробці індивідуалізованого протизапального лікування дітей, хворих на БА при відомому ацетиляторному статусі.

Таким чином, у більшості пацієнтів із повільним ацетиляторним фенотипом перебіг бронхіальної астми раннього початку асоціює зі зниженням вмісту CD-3, T-лімфоцитів, функція яких асоціює з цитотоксичною/супресорною у периферичній крові та B-лімфоцитів, а також підвищенням вмісту CD-4, що опосередковано свідчить про виразність хронічного запального алергічного процесу у даній когорти осіб та виснаженість організму, що, мабуть, пояснюється уповільненням темпів елімінації причинно значимих тригерів.

Водночас, для фенотипу раннього початку бронхіальної астми в дитячому віці із повільним ацетиляторним статусом характерне зниження активності киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові та збільшення фагоцитарної активності. Дані параклінічні зміни можна використовувати при проведенні індивідуалізованого адресного протизапального лікування бронхіальної астми раннього початку у дітей.

**Висновки з даного дослідження.** 1. Наявність повільного типу ацетилювання у пацієнтів із бронхіальною астмою раннього початку підвищує ризик зниження вмісту CD-8 у периферичній крові менше 20,0% практично у 5 разів, співвідношення шансів становить 4,9 (95% ДІ:2,6-9,3). 2. За повільного ацетиляторного фенотипу підвищувався відносний ризик виснаження киснезалежного метаболізму еозинофілів периферичної крові у 3,1 разу [95% ДІ:1,8-4,6] при співвідношенні шансів – 11,1 [95% ДІ:5,6-21,6]. 3. При наявності повільного ацетиляторного фенотипу бронхіальної астми раннього початку зростає ризик реєстрації підвищеної фагоцитарної активності еозинофілів крові, більше 60,0% (СП – 6,2), що пов'язане з атопічним запальним процесом організму та дозволяє персоналізувати лікувальну тактику в даних пацієнтів.

**Перспективи подальшого розвитку.** Оцінити особливості клінічної картини та гуморальної ланки імунної системи у дітей хворих на бронхіальну астму з урахуванням її фенотипів.

## Список літератури:

- World Health Organization. Bronchial asthma. Fact Sheet NE 307. – Geneva: World Health Organization, 2008.
- 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.
- Yang I. V. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airway disease / I. V. Yang // Breath. – 2014. – V. 10, № 1. – P. 25-31.
- Уманец Т. Р. Бронхиальная астма и аллергический ринит: пути оптимизации комплаенса и эффективности лечения / Т. Р. Уманец // Астма та алергія. – 2015. – № 1. – С. 61-64.
- Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної діагностики. «Бронхіальна астма у дітей». Наказ МОЗ України від 8.10.2013 р. – № 868. – 54 с.
- Охотникова Е. Н. Проблемные вопросы «step down» терапии бронхиальной астмы у детей / Е. Н. Охотникова // Астма та алергія. – 2014. – № 1. – С. 42-51.
- 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. Фрейдін, І. А. Тен [та ін.] // Бюлетень Сибірського відділення Російської Академії медичних наук. – 2005. – № 13. – С. 121-125.
- Study on possible role of CYP1A1, GSTT1, GSTM1, GSP1, NAT2 and ADRB2 genes polymorphisms in bronchial asthma development in children / P. F. Tatarskyu, N. G. Chumachenko, A. M. Kucherenko [at al.] // Biopolymers and Cell. – 2011. – Vol. 27. № 1. – С. 66-73.

9. 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.
10. Ортеменка С. П. Значимость показателей гиперреактивности дыхательных путей в диагностике эозинофильного фенотипа бронхиальной астмы у детей в зависимости от ацетиляторного полиморфизма / С. П. Ортеменка // Межрегиональный сборник научных работ с международным участием (к 70-летию образования Ярославского медицинского института) [«Актуальные вопросы современной педиатрии»]. – под ред. В. И. Марушкова, И. М. Мельниковой, Ю. Л. Мизерничкого. – Ярославль: Аверс Плюс, 2014. – С. 192-195.
11. Маянский А. Н., Пикуза О. И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань: Магариф. – 1993.
12. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Г. Лора-младшего, Т. Фишера, Д. Адельмана. Пер. с англ. – М. Практика. 2000.
13. SIMPLES<sup>®</sup>: a structured primary care approach to adults with difficult asthma / R. Dermot, A. Murphy, B. Stallberg [et al.] // *Prim Care Respir J*. – 2013. – № 22 (3). – P. 365-373.
14. Association between the N-acetylation genetic polymorphism and bronchial asthma / M. Nacak, A. S. Aynacioglu, A. Filiz [at al.] // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – V. 54 (6). – P. 671-674.
15. Самигуллина Н. В. Основные предикторы формирования бронхиальной астмы у детей / Н. В. Самигуллина, Р. М. Файзуллина // *Fundamental research*. – 2013. – № 7. – P. 170-173.
16. Chung K. F. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma / K. F. Chung // *Eur Respir J*. – 2013. – Dec 12. – P. 138-143.
17. Yang I. V. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airway disease / I. V. Yang // *Breath*. – 2014. – V. 10, № 1. – P. 25-31.

**Марусик У.И., Крещу Н.М., Белашова О.В.**

Буковинский государственный медицинский университет

### **ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА ШКОЛЬНИКОВ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РАННЕГО НАЧАЛА, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЦЕТИЛЯТОРНОГО СТАТУСА**

#### **Аннотация**

Проведено комплексное обследование 34 детей школьного возраста, страдающих БА раннего начала (заболевание впервые проявлялось в раннем возрасте). По ацетиляторным фенотипу больных распределяли на две клинические группы. В первую клинической группы вошли 16 пациентов, у которых определяли медленный тип ацетилирования. Вторую клиническую группу сформировали 18 школьников, у которых отмечался быстрый тип ацетилирования. Всем детям проводили иммунологическое исследование крови II-III уровней. В результате проведенных исследований установлено, что медленный тип ацетилирования у пациентов с фенотипом бронхиальной астмы раннего начала повышает риск снижения содержания CD-8 в периферической крови менее 20,0% практически в 5 раз, относительный риск истощения кислородозависимого метаболизма эозинофилов периферической крови в 3,1 раза и риск регистрации повышенной фагоцитарной активности эозинофилов крови, больше 60,0% (СШ – 6,2), что связано с атопическим воспалительным процессом организма и позволяет персонализировать лечебную тактику в данных пациентов.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дети, ацетилирования, фенотипы, нейтрофилы, эозинофилы.

**Marusyk U.I., Kretsu N.M., Belashova O.V.**

Bukovinian State Medical University

### **FEATURES OF THE IMMUNE RESPONSE OF SCHOOL-AGE CHILDREN WITH EARLY-ONSET ASTHMA, ACCORDING TO ACETYLATED STATUS**

#### **Summary**

It was conducted the complex examination of 34 school-age children with early-onset asthma (first manifested of disease was at early age). Over the course of the disease patients were divided into two clinical groups. The first clinical group included 16 patients who were evaluated slow type of acetylating. The second clinical group formed 18 students, which is marked the fastest type of acetylation. All children performed immunological blood test II-III levels. As a result of studies found that slow type of acetylating phenotype in patients with early-onset asthma increases the risk of CD-8 reduction in peripheral blood less than 20,0% almost five times, the relative risk of exhaustion by oxygen-dependent metabolic eosinophils peripheral blood in 3.1 time and the risk registration increased phagocytic activity of blood eosinophils, more than 60,0% (OR – 6,2), which is associated with atopic inflammation of the body and allows personalized treatment tactics in these patients.

**Keywords:** bronchial asthma, children, acetylating, phenotype, neutrophils, eosinophils.