

О.В.Кравченко

ПОКАЗНИКИ МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЕОЗИНОФІЛІВ КРОВІ ПРИ АТОПІЧНІЙ РЕАКТИВНОСТІ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Кафедра госпітальної педіатрії та дитячих інфекційних хвороб (зав. – проф. Л.О.Безруков)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Метою дослідження було виявлення доступних маркерів atopічної реактивності у дітей раннього віку, хворих на бронхіальну астму та визначення діагностичної цінності запропонованих тестів. Обстежували дві групи дітей з ознаками atopії (30 дітей) та без них (30 дітей). Резерв киснезалежного метаболізму еозинофілів розраховували як різницю між показниками стимульованого і спонтанного НСТ тесту. Негативний резерв киснезалежного метаболізму еозинофілів крові у дітей першої групи спостерігався у 87% випадків, у другій групі – в 9% спостережень, чутливість (Se) тесту становила – 80%, специфічність (SP) – 64%, позитивна передбачувана цінність (PV+) – 62%, негативна передбачувана цінність (PV-) – 82%. У групі дітей з ознаками atopії була тенденція до зниження вмісту катіонних білків у гранулах: Se – 86%, Sp – 50%, PV⁺⁺ – 60%, PV⁻ – 80%, що можна пов'язати з їх дегрануляцією. Враховуючи високу чутливість і негативну передбачувану цінність, запропоновані тести можна застосовувати для первинного скринінгу виявлення atopічної реактивності у дітей раннього віку, хворих на бронхіальну астму.

Ключові слова: бронхіальна астма, еозинофіли, НСТ-тест, atopія, катіонні білки.

Вступ. Бронхіальна астма є однією з найактуальніших проблем сучасної педіатрії, зокрема – дитячої алергології. Однак її своєчасна діагностика значно утруднена, особливо в ранньому дитячому віці, у зв'язку зі складністю диференціювання причин рецидивного обструктивного синдрому. На початковому етапі багато питань виникає при визначенні форми бронхіальної астми (atopічної чи інфекційно-залежної), а отже, і правильної тактики лікування у подальшому [1]. Згідно з даними літератури останніх років встановлено, що ведуча роль у розвитку бронхіальної астми в дітей належить atopії [2,7,10]. Діагностика atopічної реактивності особливо проблемна в ранньому віці у зв'язку з труднощами проведення інгаляційних тестів для виявлення гіперреактивності дихальних шляхів та необхідністю залучення низки інших досліджень – анамнестичних, генеалогічних, імунологічних та алергологічних [1,11]. Однак при суб'єктивній оцінці генеалогічних та клініко-анамнестичних даних може виникати багато помилок, а імунологічні та алергологічні дослідження відносно коштовні, залишається актуальним питання визначення доступних маркерів atopічної реактивності в дітей раннього віку, хворих на бронхіальну астму [7,8]. Особливий інтерес із цієї точки зору представляє оцінка показників функціонального стану еозинофілів як клітин пізньої фази алергічної запальної реакції у дихальних шляхах. На даний час більше приділяється уваги вивченню морфологічних характеристик цих клітин [6], в той час як досить інформативними є показники метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів крові, зокрема процесу їх киснезалежного метаболізму, а також внутрішньоклітинного вмісту в них потенційно цитотоксичних катіонних протеїнів.

Мета дослідження. Оцінити діагностичну цінність показників киснезалежного метаболізму та внутрішньоклітинного вмісту катіонних білків в еозинофільних гранулоцитах крові у встановленні atopічного варіанту бронхіальної астми в дітей раннього віку.

Матеріал і методи. Обстежено 60 хворих на бронхіальну астму дітей раннього віку, яких лікували у пульмонологічному відділенні обласної дитячої клінічної лікарні №1 м. Чернівці (головний лікар – Андрійчук Р.Г.). Першу групу дослідження склали 30 дітей із atopічною формою бронхіальної астми, у другу групу ввійшли 30 хворих дітей без atopічної реактивності. За основними клінічними характеристиками групи були зіставленими. Так, у першій клінічній групі хлопчиків було 47±1%, середній вік обстежених склав 2,8±0,5 року, відповідно в другій групі частка хлопчиків і середній вік становили 45±2%, та 2,7±0,3 року (p>0,05). Не виявлено і суттєвих відмінностей щодо тяжкості захворювання дітей груп порівняння: відсоток дітей із легким ступенем тяжкості бронхіальної астми в першій групі становив 43±2%, середнім – 40±2,5%, важким – 17±0,5%, а в другій групі відповідно – 40±3%, 38±1%, 22,0±0,8% (p>0,05). За місцем проживання 52±0,8% дітей

першої клінічної групи були мешканцями обласного центру, у другій групі частка урбанізованих дітей становила $54,0 \pm 0,5\%$ ($p > 0,05$). Тривалість перебування в стаціонарі для хворих першої клінічної групи склала $14,5 \pm 2$ дні, а дітей другої групи – $13,8 \pm 3$ дні ($p > 0,05$).

Атопічну форму бронхіальної астми в обстежених дітей констатували за умови наявності вмісту в сироватці крові загального імуноглобуліну Е більше 100 м.о., специфічних імуноглобулінів Е або позитивних шкірних алергопроб (більше двох плюсів) до небактеріальних алергенів у поєднанні зі спадковою та (чи) індивідуальною схильністю до алергічних реакцій. Для визначення ступеня тяжкості бронхіальної астми нами була використана клініко-паатогенетична класифікація захворювання у дітей, запропонована в 1998 році й затверджена в Україні [3].

Киснезалежну метаболічну активність еозинофілів вивчали за тестом з нітросинім тетразолієм (НСТ) за методом Park та співавторів у спонтанному та стимульованому пірогеналом варіантах, а різницю між показниками стимульованого і спонтанного НСТ-тесту розглядали як резерв метаболічної активності еозинофільних лейкоцитів. Внутрішньоклітинний вміст еозинофільних катіонних білків визначали за методом Пігаревського В.Е. Обидві реакції оцінювали за цитохімічним коефіцієнтом (ЦХК) за Astaldi і Verg в умовних одиницях (у.о.). Рівень загального Ig E в сироватці крові (в міжнародних одиницях) визначали за радіоімуносорбентним тестом (RIST). Вміст специфічного Ig E до побутових, епідермальних, харчових алергенів визначали якісно, оцінюючи від + до ++++, за допомогою радіоалергосорбентного тесту (RAST).

Дослідження проводили з використанням методу “випадок–контроль”. Для статистичної оцінки достовірності відмінності між показниками використовували критерій Стюдента (t) та точний метод Фішера (ТМФ). Діагностичну цінність показників киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові та внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків при вивченні атопічної реактивності оцінювали за показниками специфічності, чутливості, позитивної та негативної передбачуваних цінностей.

Результати дослідження та їх обговорення. При вивченні генеалогічного анамнезу встановлено, що в 60% дітей, хворих на атопічну форму бронхіальної астми, спостерігались алергічні захворювання в родичів першого покоління, причому в 65% з них – по лінії матері. Конституційні прояви алергічної реактивності у вигляді атопічного дерматиту до різноманітних трофалергенів були виявлені у 44% дітей першої клінічної групи, у 53% представників цієї ж групи відмічені різко позитивні шкірні проби до епідермальних алергенів. У дітей другої групи позитивний спадковий алергологічний анамнез виявлений у 10% випадків, причому лише в 40% із них – по лінії матері ($p < 0,05$). Прояви атопічного дерматиту відмічено лише в 5% представників другої клінічної групи ($p < 0,05$), а позитивні шкірні проби – у 18% випадків ($p < 0,05$). Вміст загального імуноглобуліну Е в сироватці крові в дітей першої клінічної групи склав $351,2 \pm 1,1$ м.о., а в другій групі – $90,0 \pm 1,1$ м.о. ($p < 0,05$). Наявність 1-2+ при оцінці рівня специфічного імуноглобуліну Е до побутових алергенів відмічено у 27% дітей першої групи й відповідно лише в 12% – другої групи ($p < 0,05$), до епідермальних алергенів (2-3+): у 53% випадків у першій групі та в 13% хворих другої групи ($p < 0,01$); до харчових алергенів (1-2+): у 20% представників першої та 40% дітей другої груп спостереження ($p < 0,05$).

Результати дослідження показників киснезалежного метаболізму еозинофілів крові за даними НСТ-тесту представлені в таблиці 1.

Таблиця 1
Показники метаболічної активності еозинофілів крові ($M \pm m$)

Групи спостереження щодо наявності атопічної реактивності	К-сть дітей	Катіонні білки (у.о.) еозинофілів	Показники НСТ-тесту еозинофілів		
			Спонтанний, %	Стимульований, %	Резерв киснезалежного метаболізму еозинофілів, у.о.
Наявна	30	$1,28 \pm 0,02$	$0,4 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,02$	$-0,03$
Відсутня	30	$1,93 \pm 0,03$	$0,2 \pm 0,03$	$0,18 \pm 0,01$	0,12
		$P_1 < 0,05$	$P_1 < 0,05$	$P_1 < 0,05$	$P_{ТМФ} = 0,025$

У дітей основної групи мінімальне та максимальне значення показників спонтанного НСТ-тесту становили 0,3 та 0,6 у.о., стимульованого – 0,08 і 0,21 у.о.; у хворих дітей на бронхіальну астму другої групи значення НСТ спонтанного коливалися від 0,1 до 0,3 у.о., стимульованого – від 0,18 до 0,2 у.о.. Можливо, наявність більш високих показників спонтанного НСТ-тесту в представників першої групи спостереження пов'язана з алергенною надстимуляцією еозинофільних гранулоцитів крові у дітей з атопічною формою бронхіальної астми, а низькі показники стимульованого НСТ-тесту еозинофілів,

імовірно, свідчать на користь виснаження киснезалежного метаболізму на фоні цього масивного антигенного впливу. Негативний резерв киснезалежного метаболізму активності еозинофільних клітин виявлений в 87% дітей першої групи спостереження (значення резерву коливалось від 0 до -0,06 у.о.), тоді як у дітей без ознак атопічної реактивності негативний резерв визначався лише у 9% хворих ($p < 0,05$), а значення його коливались від 0 до -0,1 у.о. Отримані дані свідчать про певну "скомпрометованість" функціональної киснезалежної активності клітин запалення – еозинофільних гранулоцитів – у дітей, хворих на бронхіальну астму, за умови наявності атопічної реактивності.

Рівень внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків (<1,5 у.о.) встановлено відповідно у 80% хворих основної групи та лише у 18% дітей групи контролю ($p < 0,01$) з мінімальними та максимальними значеннями відповідно 1,2 до 1,45 у.о. й 1,43 до 2,01 у.о. Відмічене зниження внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків у першій групі спостереження може бути обумовлене дегрануляцією цих білків із активованих алергенами еозинофілів [4]. Найближчі показники внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків (1,2-1,3 у.о.) спостерігались у дітей із від'ємним резервом киснезалежної метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів, що дає підставу припустити наявність виснаження киснезалежного метаболізму еозинофілів крові при їх стимуляції алергенами. 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.

Встановлено, що для атопічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку характерне зниження як резерву киснезалежного метаболізму, так і внутрішньоклітинного вмісту катіонних білків в еозинофільних гранулоцитах (<1,5 у.о.). Проведено оцінку діагностичної цінності даних тестів щодо виявлення атопічного варіанту бронхіальної астми у дітей раннього віку, показники якої представлені в табл.2.

Таблиця 2

Діагностична цінність показників метаболічної активності еозинофілів щодо виявлення атопічної форми бронхіальної астми у дітей перших 3 років життя

Показники метаболічної активності еозинофілів	Діагностична цінність			
	Чутливість	Специфічність	Передбачувана цінність	
			Позитивна	Негативна
Катіонні білки еозинофілів (<1,5 у.о.)	86%	50%	60%	80%
Негативний резерв киснезалежної мікробіцидності еозинофілів	80%	64%	62%	82%

Помірна специфічність запропонованого діагностичного тесту – від'ємного резерву функціональної метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів за даними НСТ-тесту пояснюється значною частотою несправжньо-позитивних результатів (20%), ця ж обставина знижує його позитивну передбачувану цінність. Цей факт можна пов'язати з тим, що еозинофільні гранулоцити активуються й при інших процесах (наприклад, гельмінтозах). Однак тест має високу чутливість та негативну передбачувану цінність. При визначенні діагностичної цінності тесту виявлення катіонних білків еозинофілів встановлено високу чутливість та негативну передбачувану цінність.

Висновок. Для атопічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку характерна наявність від'ємного резерву метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів та зниження в них вмісту катіонних білків (менше 1,5 у.о.). Визначення показників киснезалежного метаболізму та внутрішньоклітинного вмісту катіонних білків в еозинофільних гранулоцитах крові може бути використане як один із методів первинного скринінгу атопічної форми бронхіальної астми в дітей раннього віку.

Література. 1. Богданова А.В., Бойцова Е.В., Старевская С.В., Антонова Е.П. и др. Дифференциальная диагностика бронхиальной астмы у детей // Педиатрия. – 1998. – №1. – С. 66-70. 2. Вельтищева Ю.Е., Святкина О.Б. Атопическая аллергия у детей // Рос. вест. перинатологии и педиатрии. – 1995. – Т. 40. – №1. – С. 4-10. 3. Генне П.А., Каганов С.Ю. Национальная программа "Бронхиальная астма у детей, стратегия лечения и профилактика" // Рос. педиатр. журнал. – №9. – 1998. – С. 8-12. 4. Голубова А.Е.,

Комарова И.А. Лизосомально-катионный тест в практике исследования иммунограмм // Аллергология. – 1998. – С. 59-62. 5. Маянская Н.Н., Николаев Ю.А., Шургая А.М., Гефарова З.М. Цитохимическое определение лизосомально-катионных белков в нейтрофилах крови // Лабораторное дело. – 1991. – №7. – С. 15-16. 6. Нишева Е.С., Потихопова Н.А., Попова Р.Д. Способ диагностики аллергии с помощью изучения морфологии эозинофилов // Клиническая лабораторная диагностика. – 1995. – №2. – С. 19-32. 7. Резнюк И.Б., Щербина А.Ю., Нажимов В.П. Особенности воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме у детей // Педиатрия. – 1997. – №2. – С. 9-14. 8. Фассахов Р.С. Эозинофильный лейкоцит как ключевая клетка воспаления при atopической бронхиальной астме // Патологическая физиология и экспериментальная медицина. 9. Чернушенко Е.Ф. Иммунология бронхиальной астмы // Журн. практ. врача. – 1997. – №4. – С. 39-42. 10. Hopkin I.M. Therise of asthma and atopy // Quart. J. Med. – 1998. – Vol. 91. – №3. – P. 169-170. 11. Joseph Christine L.M., Foxman bet Sy, Leickey Frederick, Peterson Edward 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. 12. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwick E.M. // Lancet – 1968. – Vol. 12. – P. 532-534.

INDICES OF THE METABOLIC ACTIVITY OF BLOOD EOSINOPHILS FOR THE ESTABLISHING OF ATOPIC REACTIVITY IN EARLY AGE CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

O.V.Kravchenko

Abstract. The goal of our research was to find out available markers of atopie reactivity in early age children with bronchial asthma and to establish the diagnostic value of the suggested tests. We examined 2 groups of children: patients with signs of atopie reactivity (30 children) and 30 patients without them. The reserve of oxygen-dependent metabolism of the blood eosinophils was calculated as a difference between the indices of the stimulated and spontaneous NBT-test. The negative reserve of oxygen-dependent metabolism of the first group was found in 87% of the cases, in 9% of the cases in the second group. The test sensitivity (Se) made up 80%, specificity (Sp) – 64%, the positive predictive value (PV+) – 62%, the negative predictive value (PV-) – 82%. The children with significant signs of atopie had a tendency towards a decrease of the level of cationic proteins in the granules. It can be connected with their degranulation. Se – 86%, Sp – 50%, PV⁺⁺ – 60%, PV⁺⁻ – 80%. Thus, the suggested tests can be used for primary screening of detecting atopie reactivity in early age children afflicted with bronchial asthma, taking into consideration the high sensitivity and predictive value.

Key words: bronchial asthma, eosinophils, NBT-test, atopy, cationic proteins.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 18.10.2001 року