

Роль еозинофільних гранулоцитів крові в розвитку atopічної бронхіальної астми у дітей

О.В. Белашова, к.м.н., асистент,

кафедра педіатрії та дитячих інфекційних хвороб Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Згідно з сучасними поглядами, одними з ключових клітин, які беруть активну участь у формуванні алергічного запалення в бронхах під час розвитку бронхіальної астми (БА), є еозинофільні гранулоцити. Деякі дослідники навіть пропонують розглядати патологічну картину при БА як «хронічний еозинофільний десквамативний бронхіт» [3, 4]. Щодо визначення ролі еозинофільних гранулоцитів крові в реалізації алергічного запалення при БА в літературі більше уваги приділяється їхнім морфометричним характеристикам, проте питання метаболічної активності цих гранулоцитів висвітлені недостатньо [1, 4, 5]. У гранулах еозинофілів містяться лужні білки, головні з яких – великий основний протеїн, еозинофільний катіонний протеїн, еозинофільна пероксидаза, еозинофільний нейротоксин. Прозапальні властивості таких клітин проявляються завдяки дії саме цих речовин, яким властиві цитотоксичність, стимуляція дегрануляції опасистих клітин та базофілів [4, 6, 8]. Останніми роками встановлено, що еозинофілам притаманна фагоцитарна активність та схильність до «кисневого вибуху» у відповідь на специфічні стимули [1, 2]. Отже, визначення вмісту основних цитотоксичних речовин, які вивільняють еозинофіли – катіонних білків, пероксидази – може виявляти ступінь активації основних прозапальних клітин алергічного запалення та непрямо відображати тяжкість цього запального процесу. У літературних джерелах більше уваги приділяється визначенню вмісту зазначених цитотоксичних речовин у сироватці крові; є лише незначна кількість публікацій, присвячених визначенню ролі внутрішньоклітинного вмісту цитотоксичних речовин у розвитку atopічної БА в дітей [2, 4, 7].

Підвищення показників функціональної активності еозинофілів за наявності atopічної реактивності підкреслювалося в низці досліджень [5, 6], однак, за іншими даними, у випадку atopічної форми БА відзначається зниження функціональної активності еозинофільних гранулоцитів, пов'язане з виснаженням їхнього метаболічного потенціалу в разі алергенної стимуляції [4, 8]. Літературні повідомлення про використання змін показників метаболічної активності еозинофілів для підтвердження atopічного фенотипу БА дитячого віку нечисленні та суперечливі [6, 7, 10]. У деяких працях підкреслюється достатня діагностична цінність цих показників під час встановлення зазначеного фенотипу БА у дітей [3, 5]. Інші автори доводять, що використання одних лише показників активності еозинофільних лейкоцитів крові є малоінформативним для підтвердження чи спростування atopічної БА у дітей [3, 4, 6, 9].

Таким чином, наразі залишається низка невирішених питань, пов'язаних, насамперед, зі встановленням діагностичної, прогностичної цінності показників метаболічної активності еозинофільних лейкоцитів периферичної крові для верифікації atopічної БА в дитячому віці.

Мета дослідження – вивчення показників метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів крові при atopічній бронхіальній астмі у дітей.

Матеріал та методи

Для досягнення поставленої мети було сформовано дві клінічні групи. Першу (I) групу становили 15 дітей із atopічною БА (наявність позитивного власного алергологічного та/чи родинного анамнезу), до II клінічної групи увійшли 16 пацієнтів із діагнозом БА без ознак atopії. Середній вік хворих I клінічної групи становив $11,3 \pm 3,3$ року, а в групі порівняння – $12,7 \pm 3,2$ року ($p > 0,05$). Групи були зіставні за основними характеристиками. Показники метаболічної активності еозинофілів крові оцінювали за активністю киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові шляхом обчислення процентного вмісту формазаанпозитивних клітин із урахуванням величини цитохімічного коефіцієнта [11] та з використанням набору реактивів фірми «Діа-М», м. Москва. Внутрішньоклітинний вміст еозинофільних катіонних білків в умовних одиницях (у. о.) визначали за методом В.Е. Пігаревського; пероксидази (в у. о.) – за методом Грехема – Кнолля [11]. Отримані результати аналізували за методами біостатистики та клінічної епідеміології.

Результати досліджень

Киснезалежну метаболічну активність еозинофілів крові визначали за даними тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ-тесту) у спонтанному та стимульованому варіантах, результати якого наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Показники тесту з нітросинім тетразолієм на метаболічну активність еозинофільних гранулоцитів крові дітей в порівнюваних групах ($M \pm m$)

| Показники тесту | Клінічні групи | | Кількість дітей | |
|-------------------------------|----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | Спонтанного | Стимульованого | | |
| % формазаан-позитивних клітин | | | | |
| ЦХК, у. о. | | | | |
| I | 15 | $19,27 \pm 10,1$ | $0,22 \pm 0,14$ | $18,7 \pm 11,2$ |
| II | 16 | $18,1 \pm 11,1$ | $0,25 \pm 0,17$ | $19,1 \pm 9,9$ |
| Р між групами I і II | | $> 0,05$ | $> 0,05$ | $> 0,05$ |

Примітки: ЦХК – інтегральний цитохімічний коефіцієнт; у. о. – умовні одиниці; р – критерій Стьюдента.

Хоча статистично вірогідної відмінності за середніми показниками НСТ-тесту еозинофілів крові між групами порівняння виявити не вдалося, у дітей із atopією порівняно з хворими на неатопічну БА відзначено тенденцію до зниження показників стимульованого НСТ-тесту, який характеризує стан оксидазної метаболічної активності еозинофілів периферичної крові. Частка дітей із фенотипом atopічної БА, в яких зафіксовані показники стимульованого НСТ-тесту менші за середньогрупове значення, становила $12,2 \pm 5,0\%$, а серед хворих на неатопічну БА такі дані відзначено лише в $4,5 \pm 1,8\%$ випадків ($p < 0,05$). Між показниками стимульованого та спонтанного НСТ-тесту у хворих із atopічним фенотипом БА встановлено тісний вірогідний корелятивний зв'язок ($r = 0,99$, $p < 0,05$).

Зниження показників стимульованого НСТ-тесту на метаболічну активність еозинофільних гранулоцитів крові, можливо, пов'язане із їх тривалою алергенною стимуляцією під час реалізації алергічного запалення, яке характерне саме для atopічного фенотипу БА. Така стимуляція, ймовірно, і призводить до виснаження киснезалежного метаболізму «головних» прозапальних клітин алергічного запалення.

Статистично вірогідних відмінностей у групах порівняння за показниками індексу стимуляції еозинофільних гранулоцитів периферичної крові виявити не вдалося. У пацієнтів I клінічної групи цей показник сягав $1,13 \pm 0,5$ у. о., у представників II групи – $1,05 \pm 0,3$ у. о. ($p > 0,05$). Проте між даними індексу стимуляції еозинофілів крові та виразністю шкірної реакції негайного типу під час проведення алергологічних проб з алергенами домашнього пилу встановлено статистично вірогідний корелятивний зв'язок ($r = 0,56$, $p < 0,05$).

Отримані результати, можливо, пояснюються тим, що пил є постійним та найбільш частим сенсibiliзуючим чинником, і тривалий контакт дітей з його компонентами призводить до поступового виснаження «головних» клітин алергічного запалення. Вірогідних корелятивних зв'язків між зазначеним показником функціональної активності еозинофілів та розміром папул під час проведення алегропроб з іншими небактеріальними алергенами не виявлено.

Із урахуванням зниження показників стимульованого НСТ-тесту на активність еозинофілів крові визначено резерв киснезалежного метаболізму цих гранулоцитів, позитивне значення якого свідчить про збереження можливостей посилення «респіраторного вибуху», а негативне – про їхнє виснаження.

Резерв киснезалежного метаболізму еозинофілів визначали як різницю між показниками стимульованого та спонтанного НСТ-тесту за інтегральним цитохімічним коефіцієнтом. Негативний резерв оксидазної мікробіцидності еозинофільних клітин виявлено в $45,1 \pm 3,3\%$ хворих I групи та в $32,3 \pm 3,8\%$ хворих групи порівняння ($p < 0,05$).

Отримані дані підтверджують висунуту гіпотезу про порушення киснезалежної активності клітин алергічного запалення – еозинофільних гранулоцитів крові – у дітей, хворих на atopічну форму БА.

За негативного резерву киснезалежного метаболізму еозинофільних лейкоцитів крові атрибутивний ризик наявності atopічної БА в обстежених сягав 14,0%, відносний ризик – 1,7% (95% довірчий інтервал [ДІ] 0,97-3,1), відношення шансів розвитку БА – 1,3% (95% ДІ 0,9-1,8; $p < 0,05$).

Таким чином, визначення негативного резерву киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові за результатами НСТ-тесту може бути використане під час верифікації atopічної БА в дитячому віці, про що свідчать показники атрибутивного та відносного ризиків.

Проведено оцінку фагоцитарної активності еозинофільних гранулоцитів крові у представників груп спостереження, результати якої наведено в таблиці 2.

Таблиця 2. Показники фагоцитарної функції еозинофільних гранулоцитів крові дітей в порівнюваних групах ($M \pm m$) Клінічні групи Показники фагоцитозу

Кількість дітей ФА, % ФЧ, у.о.

I 15 62,8 ± 2,8 1,95 ± 0,14

II 16 77,4 ± 3,4 4,75 ± 0,94

P між групами I і II < 0,05 < 0,05

Примітки: ФА – фагоцитарна активність; ФЧ – фагоцитарне число; у. о. – умовні одиниці; p – критерій Стьюдента.

Відповідно до наведених даних, між досліджуваними групами виявлено статистично вірогідні відмінності за показниками фагоцитарної активності еозинофільних лейкоцитів крові. У дітей із фенотипом atopічної БА показники фагоцитарної активності та фагоцитарного числа еозинофілів були вірогідно нижчими порівняно з такими показниками у хворих дітей із неatopічною БА. Це може свідчити про функціональну виснаженість гранулоцитів крові у дітей із atopічною БА.

Внутрішньоклітинний уміст еозинофільних катіонних білків та пероксидази в пацієнтів I групи спостереження становив $0,15 \pm 0,06$ у. о. та $1,38 \pm 0,37$ у. о. відповідно, а у представників групи порівняння – $0,2 \pm 0,08$ у. о. та $1,53 \pm 0,18$ у. о. відповідно ($p > 0,05$). Хоча вірогідної різниці за цими показниками немає, все ж таки у хворих I групи прослідковується тенденція до більш низького

вмісту еозинофільних катіонних білків та пероксидази. Так, частка хворих, у яких внутрішньоклітинний вміст еозинофільних катіонних білків був меншим за середньогруповий показник, у I клінічній групі становила $60,0 \pm 3,2\%$, а в II групі – $51,3 \pm 4,2\%$ ($p > 0,05$). Частка хворих, у яких активність еозинофільної пероксидази була менша за середньогруповий показник, у I групі становила $43,1 \pm 3,6\%$, а серед представників II групи – $40,1 \pm 4,2\%$ ($p > 0,05$).

Таким чином, під час розвитку atopічної БА метаболічна активність «головних» прозапальних клітин алергічного запалення – еозинофілів крові, визначена за даними НСТ-тесту, значно скомпрометована, що можна використати при проведенні комплексної клініко-параклінічної діагностики цього фенотипу БА у дітей.

Висновки

- Під час верифікації atopічної форми бронхіальної астми можна використовувати показники метаболічної активності еозинофілів крові, визначені за даними НСТ-тесту, та їхньої фагоцитарної активності в комплексі з іншими клінічно-параклінічними даними.
- Визначення негативного резерву киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові за даними НСТ-тесту асоціюють із atopічною БА в дитячому віці.

Література

1. Класифікація бронхіальної астми у дітей // Здоров'я України. – 2010. – Тематичний номер, грудень. – С. 30.
2. Клінічні настанови з діагностики та лікування бронхіальної астми у дітей / Ю.Г. Антипкін [та ін.] // Здоров'я України. – 2010. – № 3 (14). – С. 39–41.
3. Лапшин В.Ф., Уманец Т.Р. Астма-фенотипы в детском возрасте // Здоров'я України. – 2009. – № 4/1. – С. 12–14.
4. Ласиця О.І., Ласиця Т.С., Недельська С.М. Алергологія дитячого віку. – К.: Книга плюс, 2004. – 367 с.
5. Хаптахеева Г.Э., Чучалин А.Г. Респираторная инфекция и бронхиальная астма // Пульмонология. – 2008. – № 5. – С. 75-78.
6. Чернушенко Е.Ф. Иммуные механизмы развития бронхиальной астмы // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2008. – № 4 (15). – С. 45-48.
7. Castro-Rodriguez, Jose A. The Asthma Predictive Index // Curr. Allergy Clin. Immunol. – 2011. – Vol. 11 (3). – P. 157-161.
8. Castro-Rodriguez J.A. The Asthma Predictive Index: A very usefull tool for predicting asthma in young children // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 16. – P. 212-216.
9. Global strategy for asthma management and prevention (GINA 2011) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2011.pdf.

10. Islam T., Berhane K., McConnel R. et al. Glutathione-S-transferase (GST) P1, GSTM1, exercise, ozone and asthma incidence in school children // Thorax. – 2009. – Vol. 64 (3). – P. 197-202.

11. Devulapalli C.S., Carlsen K.C., Haland G. et al. Severity of obstructive airways disease by age 2 years predicts asthma at 10 years of age // Thorax. – 2008. – Vol. 63, № 1. – P. 8-13.