

диагностика захворювань печини з використанням спектрів люмінесценції біологічних рідин людини // Матер. XXVII науч. сесії ІДНІІ гастроентерології "Гастроентерологія на рубежі нового тисячеліття. - Москва. - 2-4 лютого 2000. - С. 76. 4. Сіксаї Л.Т. Функціональне стан печини при впливі різних ендо- і екзоетологічних факторів: Автореф. дис... докт. мед. наук: 14.00.05 / Рос. гос. мед. університет. - М., 1993. - 36 с. 5. Сіксаї Л.Т., Бандурин О.Ю., Бандурин Ю.А. Спектри фотолюмінесценції сироватки крові та їх використання для діагностики захворювань печинки // Наук. вісн. Ужгородського університету, серія "Медицина". - 2000. - № 11. - С. 177-183.

A LUMINESCENT STUDY OF THE NUCLEIC ACIDS SPECTRA IN CHRONIC ACALCULONS CHOLECYSTITIS

V. Yu. Koval

Abstract. The luminescent spectra in patients with chronic acalculons cholecystitis depending on the phase of the disease, were studied. The blood DNA and RNA luminescent spectra in these patients were identical with those in apparently healthy persons. A dependence of the intensity of the DNA and RNA spectra on the phase of the disease were determined.

Key word: chronic acalculons cholecystitis, nucleic acids, luminescent spectra.

National University (Uzhgorod)

Надійшла до редакції 4.10.2002 року

УДК 616. 248-053.2-07

О.В.Кравченко

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЕОЗИНОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ТА ІМУННОГО СТАТУСУ 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. Проведено обстеження 49 хворих на atopічну форму бронхіальної астми дітей раннього віку, що проходили лікування в пульмонологічному відділенні обласної дитячої лікарні м. Чернівці. Ці діти увійшли в першу групу дослідження. Другу групу склали 45 дітей з діагнозом – гострий обструктивний бронхіт. За основними клінічними характеристиками групи були зіставлені. Негативний резерв киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові виявили у 87% дітей першої групи дослідження, у дітей без ознак atopічної реактивності негативний резерв визначався лише у 7% хворих ($p < 0,05$). Отримані дані підтверджують наявність виснаження оксидазної активності еозинофільних гранулоцитів у дітей, хворих на atopічну форму бронхіальної астми. Рівень внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних протеїнів $< 1,5$ у.о. та пероксидази $< 2,0$ у.о. виявлено у 80% хворих основної групи та у 15% дітей групи контролю ($p < 0,01$). Виявлено вірогідне підвищення вмісту Т-хелперної субпопуляції клітин. Індекс CD4/CD8 також підвищений і складає $2,8 \pm 0,4$ при $1,45 \pm 0,06$ у контролі ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав наявність прямого зв'язку концентрації імуноглобуліну E з кількістю CD4⁺-клітин ($r = 0,67$; $p < 0,05$).

Ключові слова: еозинофіл, діти, імунітет, астма.

Вступ. Бронхіальна астма складає одну з найактуальніших проблем сучасної педіатрії та дитячої алергології. Найбільш гостро стоїть питання діагностики бронхіальної астми у дітей раннього віку, у яких часто помилково діагностують обструктивний бронхіт чи пневмонію [2], у результаті чого призначається неадекватне лікування, що призводить до більш тяжкого перебігу хвороби, інвалідизації хворих, значних фінансових затрат. Тому залишається відкритим питання ранньої діагностики бронхіальної астми у дітей [2,6]. Найбільш частою формою астми у

дітей до 3 років, за даними літератури, є атопічна [4]. Але крім наявності алергічного компонента запалення в розвитку бронхіальної астми, відмічаються значні імунологічні зміни, вивчення яких є перспективним та актуальним питанням [1,6,7]. За даними літератури відомо, що специфічні Т-клітинні клони атопічних хворих є специфічними індукторами синтезу Ig E, а також являють собою значні індуктори проліферації еозинофільних гранулоцитів крові - головних прозапальних клітин алергічного процесу [7,8]. Виникає зв'яз реакції імунної системи в бік посилення Th-2 залежної відповіді, що супроводжується індукцією секреції В-лімфоцитами специфічних імуноглобулінів E, активуючих еозинофіли [8].

Мета дослідження. Вивчити показники метаболічної активності еозинофілів крові, клітинного імунітету у дітей раннього віку, хворих на бронхіальну астму.

Матеріал і методи Обстежено 49 хворих на атопічну форму бронхіальної астми дітей раннього віку, що проходили лікування в пульмонологічному відділенні обласної дитячої клінічної лікарні м. Чернівці (головний лікар - Андрійчук Р.Г.). Ці діти склали першу групу дослідження. У другу групу увійшли 45 дітей з діагнозом – гострий обструктивний бронхіт без ознак атопії. За основними клінічними характеристиками групи обстежувалися. Так, у першій клінічній групі хлопчиків було 48%, середній вік обстежуваних склав $2,6 \pm 0,5$ року, відповідно в другій групі частина хлопчиків і середній вік становили - 46% та $2,7 \pm 0,3$ року ($p > 0,05$). Не виявлено суттєвих відмінностей і щодо місця проживання. 52% дітей першої клінічної групи були мешканцями обласного центру, а в другій групі їх частина становила 53% ($p > 0,05$).

Атопічну форму бронхіальної астми в обстежених дітей констатували за умови наявності вмісту в сироватці крові загального імуноглобуліну E більше 100 МО, позитивних проб з небактеріальними алергенами у поєднанні зі спадковою та (чи) індивідуальною схильністю до алергічних реакцій.

Киснезалежну метаболічну активність еозинофілів крові визначали за тестом з нітросинім тетразолієм (НСТ-тест) за методом Park та співавт. у спонтанному та стимульованому пірогеналом його варіантах, а різницю між показниками стимульованого та спонтанного НСТ-тесту розглядали як резерв оксидазної метаболічної активності еозинофільних лейкоцитів. Внутрішньоклітинний вміст еозинофільних катіонних білків визначали за методом В.І.Пігаревського, еозинофільної пероксидази - за методом М.Ф.Шубіча [3]. Показники клітинного імунітету досліджували шляхом імунофенотипування мембранних антигенів лімфоцитів периферичної крові (CD3, CD4, CD8) з використанням моноклональних антитіл на мікроскопі. Рівень загального імуноглобуліну E в сироватці крові визначали за радіоімуносорбентним тестом (RIST). Дослідження проводили з використанням методу "випадок-контроль". Обробку даних проводили на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних програм "STATSTICA". Діагностичну цінність тестів оцінювали за показниками специфічності, чутливості, позитивної та негативної передбачуваних цінностей.

Результати дослідження та їх обговорення.

При обстеженні дітей першої клінічної групи підтвердженням наявності атопічної форми бронхіальної астми виступав підвищений вміст загального імуноглобуліну E в сироватці крові, який склав $350,0 \pm 21,1$ МО, в той час як у дітей з гострим обструктивним бронхітом – $64,0 \pm 5,3$ МО ($p < 0,05$). Наявність одного-двох плюсів при оцінці рівня шкірних тестів з побутовими алергенами відмічено в 27% дітей першої групи й відповідно лише в 11% - другої групи ($p < 0,05$), з епідермальними алергенами (два-три плюси): в 54% випадків у першій групі та в 13% хворих другої групи спостереження ($p < 0,05$); з харчовими алергенами (один-два плюси): в 20% представників першої та 40% дітей другої групи ($p < 0,05$). Враховуючи наявність алергічного запалення у дітей першої клінічної групи, вивчали метаболічну активність основних клітин, які беруть участь у його реалізації - еозинофілів крові. Результати дослідження показників резерву киснезалежного метаболізму еозинофілів крові за даними НСТ-тесту, внутрішньоклітинний вміст у них катіонних білків та пероксидази представлені в таблиці 1.

Негативний резерв киснезалежного метаболізму еозинофільних гранулоцитів крові виявлений у 87% дітей першої групи спостереження (значення коливались від 0 до- 0,06 у.о.), тоді як у дітей без ознак атопічної реактивності негативний резерв визначався лише в 7% хворих ($p < 0,01$), а значення його коливались від 0 до - 0,1 у.о.). Отримані дані підтверджують наявність виснаження функціональної оксидазної активності клітин запалення - еозинофільних гранулоцитів у дітей, хворих на атопічну форму бронхіальної астми.

Рівень внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних протеїнів $< 1,5$ у.о. та пероксидази $< 2,0$ у.о. встановлено відповідно у 80% хворих основної групи та лише у 15% дітей групи контролю ($p < 0,01$). Відмічене зниження внутрішньоклітинного вмісту цих цитотоксичних речовин може бути пояснене їх дегрануляцією з активованих алергенами еозинофілів. Найнижчі показники внутрішньоклітинного вмісту еозинофільних катіонних білків (1,2-1,3 у.о.) та пероксидази (1,7-

Показники метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів крові ($M \pm m$)

Групи спостереження	Кількість дітей n	Показники метаболічної активності еозинофілів		
		Пероксидаза (у.о.)	Катіонні білки (у.о.)	Резерв киснезалежного метаболізму (у.о.)
Наявна atopічна реактивність	49	1,8±0,04	1,24±0,02	-0,03
Відсутня atopічна реактивність	45	2,2±0,02	1,93±0,03	0,12
p		p<0,05	p<0,05	P _{тмф} <0,05

1,8 у.о.) спостерігались у дітей із наявністю від'ємного резерву оксидазної метаболічної активності еозинофільних гранулоцитів, що ще раз свідчить на користь "скомпроментованості" метаболізму еозинофілів крові при їх алергенній надстимуляції. Між показниками спонтанного НСТ-тесту еозинофілів та вмістом лізосомаально-катіонних білків у цих клітинах виявлений негативний корелятивний зв'язок ($r = -0,64$; $p < 0,05$), що зворотно відображає схильність ефекторних клітин до дегрануляції цитотоксичних речовин. Проведено визначення діагностичної цінності наявності негативного резерву оксидазної мікробіцидності еозинофілів крові та вмісту в них катіонних протеїнів менше 1,5 у.о. та пероксидази менше 2,0 у.о. щодо виявлення atopічної форми бронхіальної астми у дітей раннього віку. Показники діагностичної цінності запропонованих тестів та відношення ризиків представлені в таблиці 2.

Таблиця 2
Діагностична цінність показників метаболічної активності еозинофілів щодо виявлення atopічної форми бронхіальної астми

Показники метаболічної активності еозинофілів	Діагностична цінність				Відношення ризиків	
	Se, %	Sp, %	PV(+), %	PV(-), %	AR, %	OR
Катіонні білки еозинофілів (<1,5 у.о.), пероксидаза (<2,0 у.о.)	80	64	62	82	18	2.0*

Примітка.* (95%CI: 1,2-2,8) $\chi^2=8,8$; $Pt < 0,01$

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

Всім дітям було проведено імунологічне обстеження, враховуючи значну роль Т-клітинного клону в розгортанні алергічного процесу. Результати даного дослідження представлені в таблиці 3.

Проведені нами дослідження показують, що діти раннього віку, хворі на atopічну форму бронхіальної астми, мають вірогідні зміни експресії маркерних антигенів лімфоцитами периферичної крові. Виявлено підвищення вмісту Т-хелперної субпопуляції клітин, експресуючих CD3⁺-антиген та коекспресуючих CD4⁺-антиген. Індекс CD4/CD8 також підвищений і складає 2,8±0,4 при 1,45±0,06 у контролі ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз показав наявність прямого взаємозв'язку концентрації імуноглобуліну Е та кількістю CD4⁺-клітин ($r=0,67$; $p < 0,05$). Встановлені різниці показників імуного статусу свідчать на користь того, що в дітей з atopічною реактивністю має місце порушення імунологічних механізмів регуляції імунної відповіді із залученням клітин CD4⁺, CD8⁺, їх активацією та високою продукцією IgE - реагінів. Значні відхилення виявлені і з боку специфічних гумораль-

Експресія мембранних антигенів та вміст Т-лімфоцитів у периферичній крові в дітей раннього віку, хворих на обструктивний бронхіт та atopічну форму бронхіальної астми (M±m)

Маркер	Діти, хворі на atopічну форму бронхіальної астми	Діти, хворі на обструктивний бронхіт
CD3, 10 ⁹ /л	3,0±0,2*	1,0±0,12*
CD4 10 ⁹ /л	1,9±0,2*	0,6±0,08*
CD8 10 ⁹ /л	0,72±0,8	0,4±0,06
CD4/ CD8	2,8±0,4*	1,45±0,06*
n	49	45

Примітка. *- p<0,05

них факторів імунітету. Так, у дітей, хворих на atopічну форму бронхіальної астми, на фоні нормальних значень сироваткового імуноглобуліну А значно підвищена концентрація імуноглобулінів М (1,52±0,23 г/л, при нормі – 0,83±0,07 г/л) та Е (350,0МО±21,1), при рівні у здорових дітей –41,2±4,66 МО), що, можливо, є результатом активації імунної системи алергенними факторами.

Виявлені порушення метаболічної активності основних прозапальних клітин (еозинофілів крові) при розвитку atopічної форми бронхіальної астми свідчать про їх виснаження при надалергенній стимуляції. Але виявлені показники імунного статусу свідчать на користь того, що однією з причин розвитку запалення при atopічній формі бронхіальної астми у дітей раннього віку є порушення імунологічних механізмів регуляції імунної відповіді, із залученням клітин CD4, CD8, їх активацією та високою продукцією імуноглобулінів Е.

Висновки.

1. Для atopічної форми бронхіальної астми в дітей раннього віку характерно наявність від'ємного резерву метаболічної активності еозинофілів крові та зниження в них вмісту катіонних білків (<1,5у.о.) та пероксидази (< 2,0). Визначення цих показників може бути використане як первинний скринінг atopічної форми бронхіальної астми в дітей раннього віку.

2. Для дітей раннього віку з наявністю atopічної реактивності притаманно підвищення вмісту CD4⁺клітин, дисбаланс CD4⁺/ CD8⁺, підвищення концентрації імуноглобулінів Е та М в сироватці крові.

Література. 1. Агафонова І.О. Оцінка імунної системи у хворих на бронхіальну астму та підходи до індивідуалізованої терапії // Мед. перспективи. - 1998. - Т. 3, №2. - С. 49-52. 2. Охотникова О.М. Особливості дебюту бронхіальної астми у дітей перших років життя // Педіатрія, акушерство та гінекол. - 1999. - №4. - С. 140-141. 3. Славинский А.А., Пикитина Г.В. Цитохимическое выявление катионных белков в гранулоцитах крови амидо черным ЮБ для визуальной оценки и компьютерного анализа изображения // Клини. лаб. диагност. - 1999. - №2. - С. 35-37. 4. Фассахов Р.С. Эозинофильный лейкоцит как ключевая клетка воспаления при atopической бронхіальной астме // Патол. физиол. и эксперим. мед. - 1999. - №1. - С. 22-24. 5. Яковлева Н.Н., Никонова М.Ф., Литвина М.М. и др. Состояние классического и альтернативного путей активации Т-лимфоцитов при хроническом бронхите // Иммунология. - 1994. - №1. - С. 22-26. 6. Ярош А.М., Курч Т.К., Лебедева Т.Г., Семенова Л.В. Значение цитохимической диагностики воспалительного процесса в легких для лечения и реабилитации детей, больных рецидивирующим бронхитом // Врач. дело. - 1996. - №7. - С. 68-70. 7. Jerewe M., Jzech W., Morita A. et al. Human eosinophils produce biological active IL-12: implications for control of T-cell responses // J. Immunol. - 1998. - Vol. 28, №2. - P. 125-129. 8. Joseph Christine L.M., Foxman bet Sy, Leickey F. et al. Sensitivity and specificity of asthma differentiations and symptoms used in a survey of childhood asthma // J. Asthma. - 1999. - Vol. 39, №7. - P. 565-575.

THE PECULIARITIES OF THE METABOLIC ACTIVITY OF EOSINOPHILIC GRANULOCYTES AND IMMUNE STATUS IN EARLY AGE CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

O.V.Kravchenko

Abstract. The author examined 49 patients with atopіc bronchial asthma in children of early age who underwent a course of treatment at the pulmonology department of the Chernivtsi Pediatric Hospital. These children made up the first patient population. The second group under study consisted of 45 children diagnosed as having acute obstructive bronchitis. The groups were comparable on the basis of the main clinical characteristics. The negative reserve of oxygen-dependent metabolism for the blood eosinophilic granulocytes was detected in 87% of the children of the first clinical

series, whereas the negative reserve of children without atopic reactivity was determined only in 7% of the patients ($p < 0.05$). The obtained results confirm the presence of an exhausted functional oxidase activity of inflammatory cells – eosinophilic leukocytes in children with atopic bronchial asthma. The level of the intracellular content of eosinophilic cationic proteins < 1.5 I.U. and peroxidase < 2.0 I.U. was established in 80% of the patients of the basic group and only in 15% of the children of the control group ($p < 0.01$) respectively. A significant increase of the content of the T-helper cellular subpopulation was found. The CD4/CD8 index was also elevated and constituted 2.8 ± 0.4 with 1.45 ± 0.06 in the control series. The correlation analysis proved the existence of a direct correlation between the IgE concentration and the amount of the CD4+ cells ($r = 0.67$; $p < 0.05$).

Key words: eosinophil, children, immunity, asthma.

Bukovinian Medical State Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 24.09.2002 року