**ХЕМОКІНИ ЯК БІОМАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ**

**У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ДІТЕЙ**

*Макєєва Н.І, Алєксєєва Н.П., Головачова В.О., Ярова К.К.,*

*Бірюкова М.К., Цимбал В.М.*

Харківський національний медичний університет,

кафедра педіатрії №2

Хронічний запальний процес в бронхах є головним в патогенезі формування бронхіальної астми як захворювання. Відомо, що запалення – це захисна реакція організму на тканинне ушкодження, яка спрямована на видалення (знищення) запального агенту, власної пошкодженої тканини з подальшим відновленням дефекту. Основні фази запалення – альтерація, ексудація, проліферація. Кожна стадія запалення готує та запускає наступний етап. Проліферативні процеси починаються на етапі альтерації, досягають максимуму коли відбувається стихання альтерації та ексудації. Протягом кількох годин після діяння патогенів осілі макрофаги в вогнищі запалення запускають синтез цитокинів: спочатку прозапальних (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНО-α, ГМ-КСФ), а потім протизапальних (ІЛ-10, ІЛ-13, TGF-b). Мішенями дії усіх перерахованих факторів стають ендотеліальні клітини судин. В ділянці запалення активований ендотелій синтезує хемокіни та цитокіни ІЛ-1, ІЛ-6, ГМ-КСФ для залучення та активації нейтрофілів і моноцитів [5,6]. Хемокіни – це пептидні молекули з малою молекулярною масою (8-12 кДа), які мають властивість хемоаттрактантів. Одним з основних хемокинів для моноцитів/макрофагів та активованих Т-лімфоцитів є моноцитарний хемоаттрактантний протеїн – 1 (МСР – 1), який належить до класу СС-хемокинів. Його продукують багато клітин, включаючи мононуклеарні клітини, опасисті, Т-клітини, фібробласти, епітеліальні та ендотеліальні клітини. Синтез МСР-1 індукується ІЛ-1, ФНО-α, γ-ІНФ, ІЛ-6, ІЛ-4. МСР-1 двічі приймає участь в рекрутуванні лейкоцитів: стабілізує зв’язування лейкоцитів з ендотеліальними клітинами через інтегрини та забезпечує їх спрямовану міграцію у вогнище запалення. Під дією МСР-1 відбувається також проліферація гладком’язових клітин сосудів з секрецією ними прозапальних цитокінів, які сприяють прогресуванню захворювання за рахунок судинного ураження. Тривала персистенція антигену викликає подовження альтерації і ексудації на тлі розгорнутої проліферації та призводить до формування хронічного запалення. Клітини-макрофаги є головними клітинами в регуляції проліферації. В вогнищі запалення накопичуються активовані макрофаги, які окрім продукції хемокинів і цитокинів синтезують фактор росту фібробластів та привертають фібробласти в вогнище запалення, стимулюють проліферацію ендотеліальних та гранулоцитарно-макрофагальних клітин судинної стінки, базальної мембрани. Формується хибне коло в вогнищі хронічного запалення: лімфоцити активують макрофаги, виділяючи лімфокіни (γ-інтерферон, ІЛ-4), макрофаги активують лімфоцити, виділяючи монокіни (ІЛ-1, ІЛ-6, МСР-1, ФНО) [5-8].

Останні роки одним з провідних наукових напрямків є дослідження молекулярних маркерів запалення, які характеризують функціональний стан ендотеліальної вистілки судинного русла. Одним з таких маркерів є  МСР-1.

Метою нашої роботи було вивчення ролі хемотаксичних факторів, а саме МСР-1, у формуванні запалення та прогресуванні БА у дітей.

Матеріали і методи. Під наглядом перебувало 67 дітей, хворих на БА у віці від 5 до 18 років, більшість (63 %) серед яких складали хлопчики. Діагноз БА встановлювався згідно рекомендацій GINA по діагностиці і лікуванню БА [4]. За результатами клініко-лабораторного обстеження 30 дітей мали легкий персистуючий частково контрольований перебіг БА (1-а група), у 11 діагностована БА частково контрольована середньої тяжкості (2-а група), у 11 пацієнтів – БА частково контрольована з тяжким перебігом (3-я група). 15 дітей мали контрольований перебіг БА у періоді ремісії (4-а група). Усі обстежені пацієнти перебували у пульмонологічному відділенні КЗОЗ «Харківська міська дитяча клінічна лікарня №16». До групи контролю були включені 16 практично здорових дітей, які були співставні за віком та статтю, без наявності хронічних захворювань органів дихання та алергічних хвороб в анамнезі.

Всім хворим проведено обстеження згідно Протоколу діагностики і лікування БА у дітей в Україні [2]. Вміст хемотаксичного фактору запалення МСР-1 у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням імуноферментного набору для кількісного визначення людського МСР-1 Bender MedSystem GmbH (Австрія).

Математична та статистична обробка матеріалів дослідження проведена за допомогою статистичних пакетів Excel For Windows i Statistica 7.0 for Windows. Для вибірок із розподілом, відмінним від нормального, визначали медіану (Ме) й інтерквартильний розмах (Lq – нижній квартиль; Uq – верхній квартиль). При порівнянні показників, що характеризувалися порівнянням більше 2 точок, використовували Н-критерій дисперсного аналізу Краскела- Уолліса (KW). Для порівняння двох незалежних вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (MW). Для порівняння двох залежних вибірок використовували непараметричний критерій Вілкоксона (Т). Зв'язок між рядами показників оцінювали за допомогою методу рангової кореляції Спірмана (r). Рівень значущості визначали з урахуванням р<0,05.

Результати та обговорення. Аналізуючи показники МСР-1 у хворих на БА дітей ми виявили підвищення рівня цього хемоаттрактанту в сироватці крові у обстежених всіх груп у порівнянні з показниками дітей групи контролю (табл.. 1). Критерій Kruskal-Wallis в групах обстежений був доволі значущий: H=34,87 p=,000. Це дає можливість стверджувати, що статистичні характеристики різних груп статистично відрізняються між собою і залежать від належності пацієнту до тої або іншої групи. Найбільші, вірогідно значущі (p<0.001) показники МСР-1 мали хворі 1-ї групи з БА легкого персистуючого перебігу - 875.23 (796.11; 940.68) пг/мл. З прогресуванням тяжкості БА показники профібротичного хемокіну МСР-1 знижуються, але не досягають показників здорових дітей.

В процесі лікування загострення БА, на 7-у добу перебування хворих в лікарні (див. табл.1), показники МСР-1 в кожній групі обстежених вірогідно значуще знижувалися. Слід зазначити, що показники МСР-1 у хворих 1-ї групи хоча і знижувалися на фоні терапії, однак залишалися статистично значуще вищими за показники дітей з групи контролю: 689.16 (402.48; 779.12) пг/мл проти 379.55 (350.15; 400.90) пг/мл (p<0,05) відповідно. Привертає увагу наступе - протягом першого тижня терапії загострення БА показники МСР-1 у дітей з тяжким перебігом захворювання зменшувалися до показників групи контролю, тоді як у дітей з легким персистуючим та середньо тяжким перебігом астми ці показники хоча й зменшувалися, але не досягали норми. Можливо це пов’язане з використанням в терапії загострення тяжкої астми поруч з бронходилятаторами системних стероїдів в дозах, значно перевищуючих дози інгаляційних глюкокортикостероїдів, які зазвичай використовуються для лікування приступного періоду легкого персистуючого та середньо тяжкого перебігу БА. До речі відомо, що глюкокортикостероїди мають потужню протизапальну дію, одним з ланцюгів якої є гальмування утворення хемокинів як факторів запалення.

Таблиця 1

Статистичні характеристики показників МСР-1 у хворих

на бронхіальну астму дітей до лікування і на 7-у добу терапії (Me, (Lq, Uq))

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Групи  обстежених | Показники МСР-1,  пг/мл | |
| До лікування | Через 7 днів терапії |
| 1-а гр (легкий персистуючий перебіг) (n=30) | 875.23  (796.11; 940.68)\* | 689.16  (402.48; 779.12)\* |
| Wilcoxon Matched Pairs Test, p<,05000 | *Т=0.00, р1заг-1дин=0.000089* | |
| 2-а гр (середньо тяжкий перебіг) (n=11) | 545.35  (255.11; 793.12)& | 515.23  (211.47; 605.22) |
| Wilcoxon Matched Pairs Test, p<,05000 | *Т=0.00, р2заг-2дин=0.043115* | |
| 3-я гр (тяжкий перебіг) (n=11) | 480.22  (217.34; 779.12) | 298.68  (205.23; 502.64) |
| Wilcoxon Matched Pairs Test, p<,05000 | *Т=0.00, р3заг-3дин=0.027709* | |
| Група контролю (n=16) | 379.55  (350.15; 400.90) | |

Примітки:

1. \* - p<0.001 в порівнянні з групою контролю;
2. & -p<0.001 в порівнянні з показниками 1-ї групи.

Порівнюючи показники МСР-1 у дітей з контрольованим та частково контрольованим перебігом БА слід зазначити, що рівень профібротичного хемокіну МСР-1 в сироватці крові залишається підвищеним незалежно від рівню контролю. А діти з частково контрольованою астмою мають вірогідно вищі показники МСР-1 в порівнянні з показниками МСР-1 групи контролю (див. табл.2).

Таблиця 2

Статистичні характеристики показників МСР-1 у хворих

на  бронхіальну астму дітей в залежності від рівню контролю захворювання (Me (Lq; Uq))

|  |  |
| --- | --- |
| Рівень контролю БА | Показники МСР-1, пг/мл |
| Контрольований перебіг БА n=21 | 548.22 (212.48; 968.13) |
| Частково контрольований перебіг БА n=29 | 797.29 (578.64; 880.43)\* |
| Група контролю n=16 | 379.55 (350.15; 400.90) |

Примітка: \* - вірогідність різниці показників p<0.001 у порівнянні з показниками у дітей з групи контролю

Оцінюючи рівень біомаркеру запалення МСР-1 в сироватці крові можливо припустити, що запальний процес в організмі, навіть у дітей з контрольованим перебігом БА, при відсутності клінічних проявів захворювання, зберігається. Продовження запалення потребує проведення протизапальної терапії, а показники МСР-1 можуть розглядатися як одні з лабораторних критеріїв тривалості та успішності протизапальної терапії БА.

Ми виявили прямий взаємозв’язок показників МСР-1 при загостренні та в динаміці спостереження на фоні терапії у хворих всіх груп, оцінюючи кореляційні взаємозв’язки з використанням методу рангової кореляції Спірману (r). Вірогідно високий позитивний рівень зв’язку показників МСР-1 в процесі лікування відмічений у хворих 1-ї групи: r=+0,72 p=0,000332; середньої ступені взаємозв’язок у дітей 2-ї групи: r=+0,6 p=0,284757 та дуже високий, вірогідно значущий рівень зв’язку у пацієнтів 3-ї групи - r=+0,94 p=0,004805 відповідно.

Аналізуючи рівень МСР-1 і показників імунної системи у обстежених хворих ми не виявили значущих взаємозв’язків між цими показниками. Прямий кореляційний зв’язок відмічений між показниками Т-лімфоцитів (CD3) r=0,84 (p<0,02) з МСР-1. У пацієнтів з середньо тяжким перебігом БА встановлений низький зворотній зв’язок МСР-1 з рівнем IgE - r=-0,23. З рівнем моноцитів крові взаємозв’язку встановлено не було.

Порівнюючи рівень МСР-1 у дітей з алергічною, неалергічною та змішаною астмою треба відзначити, що максимально високі показники МСР-1 мали діти з неалергічною астмою, мінімальні – хворі на змішану форму БА. Показники МСР-1 у дітей з різними формами бронхіальної астми надані у таблиці 3.

Таблиця 3

Статистичні характеристики показників МСР-1 у дітей

з бронхіальною астмою в залежності від форми хвороби (Me (Lq;Uq))

|  |  |
| --- | --- |
| Групи обстежених | Показники MCP-1, пг/мл |
| Алергічна форма БА (n=45) | 788.12 (397.92;892.80) |
| Неалергічна форма БА (n=6) | 890.12 (825.68; 1008.11) |
| Змішана форма БА (n=10) | 668.47 (327.12; 793.54) |
| Група контролю (n=16) | 379.55 (350.15;400.90) |
| KW ANOVA by Ranks: H=18,67, *p= ,0003*; MW U Test: *pн-гк=0,000520,*  *ра-гк=0,0005631* | |

Примітка: рн-гк, ра-гк – вірогідність різниці показників групи дітей з неатопічною та атопічною формами захворювання з показниками групи контролю.

Отримані результати можливо пов’язані з тригером загострень астми у дітей різних груп, оскільки відсоток дітей з проявами симптомів астми після контакту з алергенами був максимальний у хворих на алергічну астму і мінімальний у пацієнтів з неалергічною астмою. Але недостатньо значна кількість обстежених в групах не дозволяє стверджувати наявність такої залежності, тому потрібні подальші дослідження для перевірки цієї гіпотези.

Таким чином, у дітей з БА відмічається підвищення рівня МСР-1, що свідчить про участь цього хемокіну в формуванні та подовженні запального процесу. Максимально високий рівень МСР-1 у дітей с легким персистуючим перебігом БА можливо є маркером активації захисних сил. Зниження його по мірі зростання тяжкості захворювання, можливо, відображує прогресування запалення, формування процесів ремоделювання бронхів з елементами незворотних склеротичних змін з одного боку та особливостями терапії загострення у дітей з тяжкою астмою, а саме використання системних стероїдів, з іншого. Результати вимірювання складу МСР-1 у сироватці крові можуть бути запропоновані в якості лабораторних критеріїв предикторів формування тяжкості перебігу БА.

Хемокіни як біомаркери запалення у хворих на бронхіальну астму дітей

*Макєєва Н.І., Алєксєєва Н.П., Головачова В.О., Ярова К.К.,*

*Бірюкова М.К., Цимбал В.М.*

Харківський національний медичний університет, кафедра педіатрії №2

*Резюме.* Одним з провідних наукових напрямків в медицині на сьогоднішній день є дослідження молекулярних маркерів запалення - хемокинів, цитокинів. У статті надано результати дослідження хемокіну - моноцитарного хемоаттрактантного протеїну – 1 (МСР – 1) в сироватці крові дітей, хворих на бронхіальну астму. Наведені дані що до вмісту МСР-1 в залежності від тяжкості перебігу хвороби та форми бронхіальної астми. Показники МСР-1 у сироватці крові хворих на бронхіальну астму дітей можуть бути запропоновані в якості лабораторних критеріїв предикторів формування захворювання та його перебігу.

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, запалення, хемокін МСР-1.

Хемокины как биомаркеры воспаления у больных бронхиальной астмой детей.

*Макеева Н.И., Алексеева Н.П., Головачова В.А., Яровая Е.К.,*

*Бирюкова М.К., Цымбал В.Н.*

Харьковский национальный медицинский университет, кафедра педиатрии №2

*Резюме.*  Одним из ведущих научных направлений в медицине на сегодняшний день является исследование молекулярных маркеров воспаления – цитокинов, хемокинов. В статье приведены результаты определения хемокина – моноцитарного хемоаттрактантного протеина – 1 (МСР-1) в сыворотке крови детей, больных бронхиальной астмой. Получены данные по содержанию МСР-1 в крови в зависимости от тяжести течения и формы бронхиальной астмы. Показатели МСР-1 могут быть рассмотрены как лабораторные критерии предикторов формирования заболевания и его течения.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, воспаление,

хемокин МСР-1.

Chemokines as the biomarkers of inflammation in children with bronchial asthma.

*Makieieva N.I., Alekseeva N.P., Golovachova V.O., Iarova K.К.,*

*Biriukova М.К., Tsymbal V.M.*

Kharkiv National Medical University, Department of Pediatrics №2

*Abstact*. The study of molecular markers of inflammation - cytokines, chemokines is one of the leading scientific fields in modern medicine. The results of determining the chemokine - monocyte chemoattractant protein - 1 (MCP-1) in the blood serum of children with bronchial asthma are presented in the article. The content of MCP-1 in the blood depending on the form and severity of bronchial asthma was obtained. The levels of MCP-1 can be considered as laboratory criteria of predictors of bronchial asthma formation and its course.

Key words: bronchial asthma, children, inflammation, chemokine MCP-1

Перелік посилань

1. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в системе неспецифической защиты респираторного тракта / А.Е. Абатуров // Здоровье ребенка. – 2009. - №1(16). – С.186-194.
2. Наказ Міністерства охорони здоровя України 08 жовтня 2013 року № 868 «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги – бронхіальна астма у дітей».
3. Поляков В.В. Клиническое значение эндотелиальной дисфункции у детей с рецидивирующим обструктивным бронхитом и астмой/ В.В. Поляков, А.С. Сенаторова// Международный медицинский журнал.- 2012.- №2.- С. 32-35.
4. Рекомендации Глобальной инициативы по борьбе с бронхиальной астмой (Global Initiative for Asthma, GINA), пересмотр 2009 г. // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. - 2010. - № 5–6 (34–35). - С.56-63.
5. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - №6. – С.5-8.
6. Титов В.Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. - №12. – С.3-10
7. Чернышова О.Е. Современные представления о патогенезе бронхиальной астмы/ О.Е. Чернышова, Е.И. Юлиш// Современная педиатрия.- 2010. - № 2(30). – С. 67-71.
8. Gaston B. The biochemistry of asthma/ B. Gaston// Biochim. Biophys. Acta.- 2011. - Vol. 1810 (11). -–P. 1017-1024.