

ДІАГНОСТИЧНА ТА ПРОГНОСТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ СУДИННОЇ МОЛЕКУЛИ МІЖКЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ-1 (sVCAM-1) У ДІТЕЙ ІЗ БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Бронхіальна астма (БА) займає провідне місце в структурі хронічної патології органів дихання і є однією з найважливіших проблем охорони здоров'я в усьому світі. Це в першу чергу обумовлено зростанням поширеності БА у всіх вікових групах, збільшенням числа важких і резистентних до терапії форм хвороби [1,2]. У світовому рейтингу БА є одним з топ-20 хронічних станів, а у віці 5-14 років вона є однією з топ-10 причин, що призводять до інвалідації дітей. Смертність від БА у дітей у всьому світі коливається в діапазоні від 0,0 до 0,7 на 100 000 чоловік [3].

На сучасному етапі БА розглядається як хронічне запальне захворювання дихальних шляхів [4]. Особливий інтерес в розумінні механізмів формування запального процесу при БА викликає регуляція хемотаксичних, запальних і репаративних процесів [5], а також вивчення функції ендотелію та участь його в розвитку патологічного стану [6,7,8].

Вивчаючи ендотеліальну дисфункцію при патології різних органів та систем (серцево-судинна, ендокринна, сечовивідна та інші) з'ясовано, що порушення функції ендотелію супроводжується активацією ендотеліальних клітин, які в свою чергу експресують запальні медіатори та молекули адгезії клітин [9,10,11]. Можна припустити, що формування ендотеліальної дисфункції у дітей при БА теж має подібні механізми та експресія молекули адгезії клітин бере активну участь у патологічному процесі хронічного запалення. В запальному процесі слизової дихальних шляхів при БА приймають участь багато клітини. Насамперед, це тучні клітини, базофіли, лімфоцити і макрофаги [12]. Слід зазначити, що вибірковість участі в запаленні (в тому числі алергічному) базофілів та еозинофілів визначається існуванням на їх поверхні специфічних молекул, а саме VCAM-1 [14,15]. Сучасні дані свідчать, що значна роль у розвитку та підтримці запального процесу при БА належить цитокінам і молекулам міжклітинної адгезії, які контролюють міжклітинну взаємодію і міграцію лейкоцитів в зону запалення [13].

На теперішній час є безліч робіт присвячених вивченню запального процесу при БА, однак немає ще повного розуміння механізму формування хронічного запалення, що і стало причиною проведення даного дослідження.

Мета: вивчення рівня sVCAM-1 у дітей з бронхіальною астмою на різних етапах захворювання в якості діагностично-прогностичного показника.

Матеріали та методи: нами обстежено 70 дітей (40 хлопців та 30 дівчат) з персистуючим перебігом БА. Середній вік склав $10,63 \pm 3,07$ роки. Обстеження проводили на базі пульмонологічного відділення КЗОЗ «Харківська міська клінічна дитяча лікарня №16». Для постановки діагнозу проводили ретельний збір анамнезу, оцінку загального стану, біохімічні, інструментальні дослідження, беручи до уваги вимоги протоколу діагностики та лікування дітей, хворих на БА. Хворі діти з БА були розподілені на групи в залежності від тяжкості перебігу. 1 група склала 35 дітей, до якої увійшли хворі з легким персистуючим перебігом, 2 група – 22 дитини з середньо-тяжким перебігом, і 3 група – 13 дітей з тяжким перебігом БА. Для порівняння відібрано 15 практично здорових дітей, які увійшли до групи контролю. Обстеження проводили в період загострення та ремісії захворювання.

Визначався рівень sVCAM-1 в сироватці крові з використанням набору BenderMedSystems (Австрія) для визначення sVCAM-1. Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в крові - за методом V.Naskova (1978). Рівень метаболіту оксида азоту S-

нітрозотіола в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом із застосуванням реакції Грісса за допомогою біохімічного аналізатора STAT FAX 303+. Манжеточну пробу за Celermajer D.S. і співавт. (1992) проводили для визначення ендотелій-залежної дилатації плечової артерії з використанням цифрового дуплеровського ультразвукового діагностичного комплексу «Ultima PA» з використанням датчика 10-15 МГц.

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою статистичних пакетів "EXCELL FOR WINDOWS" і "STATISTICA 7.0. FOR WINDOWS". В якості характеристики групи для ознак з розподілом, відповідним законом Гауса, використовували середнє арифметичне значення (\bar{X}), його помилку (\bar{x}) і стандартне відхилення (S). Для вибірок з розподілом, відмінним від нормального, визначали медіану (Me) і інтерквартильний розмах (Lq - нижній квартиль; Uq - верхній квартиль). При порівнянні показників, які характеризувалися порівнянням більш 2 точок, використовували Н критерій дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса (KW). Рівень значущості визначався з урахуванням поправки Бонферроні. Для порівняння двох незалежних вибірок використовували непараметрический U-критерій Манна-Уїтні (MW). Для порівняння двох залежних вибірок використовували непараметрический критерій Вілкоксона (T). Оцінку зв'язку між рядами показників визначали за допомогою методу рангової кореляції Спірмана (r). Рівень значущості визначали з урахуванням $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення: у 60% хворих 1 групи тривалість захворювання склала до 2 років, у 14% хворих - до 5 років та у 26% хворих - більше 5 років; 25% дітей 2 групи хворіли на БА до 2 років та 25% дітей до 5 років, а тривалість захворювання більше 5 років відмічалась у 50% хворих; у дітей 3 групи встановлено, що до 2 років хворіли 8% дітей, до 5 років - 15% дітей, і більше 5 років - 77% хворих. Зазначено, що у більшості дітей 2 і 3 груп тривалість захворювання склала більше 5 років.

Діагностована алергічна форма БА у переважній більшості обстежуваних (74,4%, $p < 0,001$). Однак, по міру наростання ступеня тяжкості захворювання встановлена тенденція до зниження відносної кількості дітей з алергічною формою, і, відповідно, збільшення пацієнтів зі змішаною формою захворювання. Так, у дітей 1 групи змішана форма БА мала місце у 6% випадків, у дітей 2 групи - у 30% дітей, а у дітей 3 групи - у 64% хворих.

Беручи до уваги, що БА це насамперед алергічне захворювання, ретельно вивчався алергологічний анамнез. Супутні алергічні стани виявлені у дітей всіх груп. Алергічний риніт встановлений у 23,1% обстежених, atopічний дерматит - у 4,3%, та обидва супутні алергічні стани - у 7,2% хворих.

% приросту діаметра плечової артерії на 30 сек. у дітей хворих на БА в період загострення склав 7,30(6,25; 8,49) % у дітей 1 групи; 6,71(6,10; 6,98)% - у хворих 2 групи, 5,56(4,80; 5,86) - хворих 3 групи, порівнянно з показником дітей контрольної групи - 19,35(17,00; 21,00). Визначене статистично значуще зниження його в період загострення у всіх дітей хворих на БА ($p_{k-1} = 0,0004$, $p_{k-2} = 0,0000$, $p_{k-3} = 0,0000$, де p_k - показники контрольної групи, $p_{1,2,3}$ - показники хворих 1,2 і 3 груп). У дітей з важким ступенем захворювання виявлені найбільш виражені зміни ($p_{1-3} = 0,0000$, $p_{1-2} = 0,0003$). В період ремісії у дітей 1 групи % приросту діаметра плечової артерії на 30 сек. дорівнював 8,73 (8,11; 9,80)%, у дітей 2 групи - 8,07 (7,39; 8,35)%, у дітей 3 групи - 6,32 (5,57; 7,27)%, і залишався достовірно нижче нормативних величин ($p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0012$, $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0004$, $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0000$). Це вказує на те, що вже при легкому варіанті БА мають суттєві зміни в стінці судини, а саме зниження його вазодилатуючих властивостей. Крім того, вони зберігаються і в періоді ремісії.

Також для оцінки функції ендотелію визначався рівень метаболіта оксиду азоту - S-нітрозотіола в сироватці крові в період загострення та в період ремісії захворювання. Рівень S-нітрозотіола в сироватці крові у дітей в період загострення склав 0,17 (0,15; 0,22) ммоль/л у дітей 1 групи; 0,14 (0,11; 0,15) ммоль/л - у дітей 2 групи та 0,11 (0,08; 0,11) ммоль/л - у дітей 3 групи; а в період ремісії - 0,30(0,24; 0,43) ммоль/л у дітей 1 групи,

0,29 (0,24; 0,39) ммоль/л – у дітей 2 групи та 0,20 (0,18; 0,25) ммоль/л – у дітей 3 групи, в порівнянні з показниками дітей контрольної групи 0,33 (0,28; 0,37) ммоль/л, $p < 0,005$. Проведений аналіз даних встановив статистично значуще зниження рівня S-нітрозотіола в сироватці крові в періоді загострення у дітей 1, 2 та 3 групи, порівняно з показниками дітей контрольної групи. Найбільш значне зниження рівня цього показника встановлено у дітей 3 групи ($p_{1-3} = 0,0000$, $p_{1-2} = 0,0001$). В періоді ремісії рівень S-нітрозотіола в сироватці крові у дітей 1, 2 та 3 груп зберігався нижче, ніж у дітей групи контролю ($p_{к-1ремис.} = 0,0008$, $p_{к-2ремис.} = 0,0000$, $p_{к-3ремис.} = 0,0000$). Це свідчить про те, що навіть в періоді ремісії зберігається патологічний процес, який призводить до стійких змін в стінці судин, та імовірно служить причиною формування хронічного запалення.

Після проведеного аналізу статистичних характеристик множинного порівняння показників % приросту діаметра плечової артерії на 30 сек. та S-нітрозотіола в сироватці крові встановлено, що критерій Краскла-Уолісса (H) високо значущий за обома показниками (відповідно $H = 56,37$, $p = 0,0000$; $H=55,40$, $p = 0,0000$). Це дає право стверджувати, що статистичні характеристики різних груп статистично відрізняються між собою, а рівень цих показників, залежить від належності пацієнта до тієї чи іншої групи. Отримані дані вказують на наявність ендотеліальної дисфункції (зокрема дефіцит NO-залежної функції ендотелію), та зниження дилатуючих властивостей судин.

Вивчаючи літературні данні зазначено, що при пошкоджені ендотелію ендотеліальні клітини починають експресію біологічно активних речовин, а саме молекул адгезії, які залучаються до місцевого запального процесу. Встановлено, що рівень sVCAM-1 в сироватці крові в періоді загострення у дітей 1 групи дорівнював 1020,36 (900,52; 1090,08) нг/мл, 2 групи - 1265,08 (1100,81; 1380,62) нг/мл, 3 групи - 1700,73 (1550,38; 1900,32) нг/мл; в періоді ремісії у дітей 1 групи – 845,44 (790,38; 950,62) нг/мл, у дітей 2 групи – 1095,57 (950,52; 1190,63) нг/мл, у дітей 3 групи – 1500,48 (1380,28; 1700,25) нг/мл, порівняно з 745,60 (690,82; 790,19) нг/мл у дітей групи контролю, $p < 0,005$. Зазначено значне підвищення рівня sVCAM-1 в сироватці крові у дітей, хворих на БА в періоді загострення ($p_{к-1загостр.} = 0,0000$, $p_{к-2загостр.} = 0,0000$, $p_{к-3загостр.} = 0,0000$). Найбільш високі показники встановлені у дітей 3 групи ($p_{1-3} = 0,0000$, $p_{1-2} = 0,0003$). Критерій Краскла-Уолісса (H) високо значущий ($H = 56,80$, $p = 0,0000$), і це вказує на те, що рівень sVCAM-1 в сироватці крові залежить від тяжкості перебігу захворювання. При вивченні даного показника в періоді ремісії відмічено його зниження ($p_{1загостр.-1ремис.} = 0,0000$, $T=19,00$; $p_{2загостр.-2ремис.} = 0,0000$, $T=0,00$; $p_{3загостр.-3ремис.} = 0,015$, $T=11,00$), проте зберігалось статистично значуще його підвищення в порівнянні з показником групи контролю ($p_{к-1ремис.} = 0,0004$, $p_{к-2ремис.} = 0,0000$, $p_{к-3ремис.} = 0,0000$). Це вказує на те, що навіть в періоді ремісії продовжується експресія sVCAM-1.

Відомо, що стимуляція H1-рецепторів гістаміном індукує симптоми негайної алергії і вносить істотний внесок у розвиток алергічного запалення. Паралельність активації H1-рецепторів з продукцією прозапальних цитокінів і молекул міжклітинної адгезії вказує на більш широкий діапазон участі гістаміну та його H1-рецепторів у розвитку ранньої та пізньої фаз алергічної відповіді. Результати численних досліджень показали, що у хворих з алергічними захворюваннями в організмі постійно присутній мінімальний рівень алергічного запалення - MPI (Minimal Persistent Inflammation), або мінімальне персистуюче запалення. Мінімальне персистуюче запалення характеризується інфільтрацією тканин запальними клітинами (еозинофілами і нейтрофілами) [16], на поверхні яких відбувається експресія sVCAM-1 [14,15].

Нами припущено, що одним з пошкоджуючих факторів, впливаючих на функцію ендотелію та активність ендотеліальних клітин можуть бути ЦІК. Рівень ЦІК дорівнював у дітей 1 групи – 89,50 (70,00; 102,00) у.о., у дітей 2 групи – 97,50 (88,00; 123,00) у.о., у дітей 3 групи – 132,00 (121,00; 143,00) у.о. Встановлено статистично значуще підвищення рівня ЦІК у хворих всіх груп, а найвищі показники виявлено у дітей 3 групи ($p_{1-3} = 0,0000$, $p_{1-2} = 0,0000$). По мірі наростання тяжкості процесу збільшуються і

імунопатологічні реакції в ендотелії та адгезія на його стінці ЦК. Це підтверджено наявністю кореляційних зв'язків між рівнем ЦК та рівнем sVCAM-1 в сироватці крові у дітей 2 та 3 груп (відповідно $r = + 0,70$, $p < 0,05$, $r = + 0,71$, $p < 0,05$). Відмічений також більш низький кореляційний зв'язок у дітей 1 групи ($r = + 0,43$, $p < 0,05$). Це може пояснити перевагу змішаної форми захворювання у дітей з найбільш важким перебігом БА. Підвищений рівень sVCAM-1 в сироватці крові, який зберігається і в періоді ремісії говорить про триваючий вплив на ендотелій судин, тобто на наявність порушення його вазодилатуючої функції. При проведенні додаткового кореляційного аналізу встановлен зворотній кореляційний зв'язок рівнів S-нітрозотіола та sVCAM-1 в сироватці крові в період загострення та в період ремісії (відповідно $r = -0,75$, $p < 0,05$; $r = -0,69$, $p < 0,05$). Отже формується патологічне коло хронічного запального процесу.

Показано, що у дітей з БА вже при легкому перебігу захворювання маються ознаки порушення функції ендотелію, що в свою чергу веде до стимуляції ендотеліальних клітин та експресії sVCAM-1. Крім цього вона знаходиться і на поверхні еозинофілів і нейтрофілів, які також беруть активну участь у алергічному запаленні. sVCAM-1 в свою чергу адгезує на поверхні ендотелію біологічно активні речовини, а саме ЦК. Встановлено, що рівень sVCAM-1 залежить від тяжкості перебігу БА. Найбільш підвищений він є переважно у дітей зі змішаною формою захворювання і зберігається високий його рівень навіть в періоді ремісії, що вказує на збереження активності запального процесу.

Висновки: встановлено, що порушення функції ендотелію залежить від тяжкості перебігу БА та зберігається в періоді ремісії захворювання. Це підтверджується підвищеним рівнем sVCAM-1 та S-нітрозотіола в сироватці крові та зниженням % приросту діаметра плечової артерії на 30 сек. як в період загострення, так і в період ремісії. Таким чином, sVCAM-1 може служити в якості діагностично-прогностичного критерію в тяжкості перебігу БА. Експресія sVCAM-1 різними клітинами формує патологічний процес, який призводить до стійких змін в ендотелії судин та є одним із механізмів формування хронічного запалення.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.