

# Маркеры транзиторного и персистирующего фенотипов синдрома бронхиальной обструкции у детей

Н.Д. Савенкова, А.А. Джумагазиев, Д.А. Безрукова, Д.В. Райский

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России



Оригинальная  
статья



Original  
Paper

**Цель исследования:** выявить биомаркеры транзиторного и персистирующего фенотипов синдрома бронхиальной обструкции (СБО) у детей раннего и дошкольного возраста.

**Дизайн:** проспективное когортное клиническое исследование.

**Материалы и методы.** У 101 ребенка с рецидивирующим СБО в возрасте от 1 года до 6 лет были оценены исходные иммунограммы и концентрации интерлейкинов (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8) в сыворотке крови. В ходе последующего 6-летнего наблюдения 18 детей были исключены из исследования. Из остальных участников на основании катamnестических данных были сформированы группы сравнения: когорты детей с транзиторным СБО, у которых не отмечалось рецидивов заболевания по истечении 6 лет наблюдения (первая группа, n = 39), и дети с персистирующим СБО с исходом в бронхиальную астму (вторая группа, n = 44). Группу контроля составили 32 условно здоровых ребенка соответствующего возраста.

**Результаты исследования.** Анализ концентраций цитокинов выявил статистически значимые различия между группами сравнения. Так, уровень IL-8 в первой группе составил  $5,6 \pm 0,6$  пг/мл, во второй —  $10,1 \pm 1,6$  пг/мл ( $p = 0,004$ ), уровень IL-4 в первой группе был равен  $4,0 \pm 0,4$  пг/мл, во второй —  $9,9 \pm 1,5$  пг/мл ( $p = 0,001$ ).

**Заключение.** Выявленные биомаркеры позволяют идентифицировать фенотипы рецидивирующего СБО у детей, прогнозировать исход заболевания и персонализировать терапию.

**Ключевые слова:** дети, бронхиальная обструкция, фенотип, цитокины.

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

**Для цитирования:** Савенкова Н.Д., Джумагазиев А.А., Безрукова Д.А., Райский Д.В. Маркеры транзиторного и персистирующего фенотипов синдрома бронхиальной обструкции у детей // Доктор.Ру. 2019. № 5 (160). С. 11–14. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-160-5-11-14

## Markers of Transient and Persistent Bronchial Obstruction Syndrome Phenotype in Children

N.D. Savenkova, A.A. Djumagaziev, D.A. Bezrukova, D.V. Raiskiy

Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia; 121 Bakinskaya Str., Astrakhan, Russian Federation 414000

**Study Objective:** To identify the markers of transient and persistent bronchial obstruction syndrome (BOS) phenotypes in preschool and primary school-aged children.

**Study Design:** Prospective cohort clinical study.

**Materials and Methods:** 101 children with recurrent BOS aged 1 to 6 years old had their initial immunograms and serum interleukin (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8) concentrations assessed. During the further follow-up for 6 years 18 children were excluded from the study. The follow-up study allowed identifying the following comparisons from the remaining children: the group of children with transient BOS who did not have any disease relapses after 6 years of follow-up (group one, n = 39) and children with persistent BOS progressing into bronchial asthma (group two, n = 44). The control group comprised 32 conditionally healthy children of the respective age.

**Study Results:** The cytokine concentration analysis identified statistically significant differences between groups. IL-8 level in group 1 was  $5.6 \pm 0.6$  pg/mL, whereas in group 2 it was  $10.1 \pm 1.6$  pg/mL ( $p = 0.004$ ); IL-4 level was  $4.0 \pm 0.4$  pg/mL in group 1 and  $9.9 \pm 1.5$  pg/mL in group 2 ( $p = 0.001$ ).

**Conclusion:** These biomarkers allow identifying recurrent BOS phenotypes in children, making prognosis of disease and individualising therapy.

**Keywords:** children, bronchial obstruction, phenotype, cytokines.

The authors declare that they do not have any conflict of interests.

**For reference:** Savenkova N.D., Djumagaziev A.A., Bezrukova D.A., Raiskiy D.V. Markers of Transient and Persistent Bronchial Obstruction Syndrome Phenotype in Children. Doctor.Ru. 2019; 5(160): 11–14. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-160-5-11-14

Безрукова Дина Анваровна — д. м. н., заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней, поликлинической и неотложной педиатрии ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России. 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. eLIBRARY.RU SPIN: 4310-2452. E-mail: dina-bezrukova@mail.ru

Джумагазиев Анвар Абдрашитович — профессор кафедры пропедевтики детских болезней, поликлинической и неотложной педиатрии ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России, д. м. н., профессор, заслуженный врач РФ. 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. eLIBRARY.RU SPIN: 2302-9460. E-mail: anver\_d@mail.ru

Райский Дмитрий Валерьевич — к. м. н., доцент кафедры поликлинического дела и скорой медицинской помощи с курсом семейной медицины ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России. 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. eLIBRARY.RU SPIN: 8369-9544. E-mail: dm\_eden@mail.ru

Савенкова Наталья Дмитриевна — ассистент кафедры пропедевтики детских болезней, поликлинической и неотложной педиатрии ФГБОУ ВО «Астраханский ГМУ» Минздрава России. 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. E-mail: savenkova.natasha@mail.ru

**Р**ецидивирующий синдром бронхиальной обструкции (СБО) у детей раннего и дошкольного возраста в настоящее время остается наиболее актуальной проблемой педиатрии. Неослабевающий клинический и научный интерес к рецидивирующему СБО во всем мире обусловлен как высокой частотой встречаемости, так и рядом дискуссионных вопросов, касающихся возможности его трансформации в другие нозологические формы на последующих этапах жизни.

**Цель исследования:** выявить биомаркеры транзиторного и персистирующего фенотипов синдрома бронхиальной обструкции у детей раннего и дошкольного возраста.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное когортное клиническое исследование был включен 101 ребенок с рецидивирующим СБО — 60 мальчиков (59,4%) и 41 девочка (40,6%) в возрасте от 1 года до 6 лет, получавшие лечение в Детской городской клинической больнице № 2 г. Астрахани в период с 2010 по 2011 г.

Критериями включения детей в клиническое исследование являлись:

- возраст от 1 года до 6 лет;
- патогномичные признаки бронхиальной обструкции;
- наличие трех и более эпизодов СБО в течение года;
- информированное добровольное согласие родителей на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- ОРВИ, перенесенная в предшествующие 3 недели;
- рентгенологические признаки инфильтрации легочной ткани;
- наличие врожденных пороков развития челюстно-лицевой зоны, сердечно-сосудистой системы и респираторного тракта, бронхиальной астмы (БА), бронхолегочной дисплазии, а также генетических дефектов, сопровождающихся первичной или вторичной дыхательной недостаточностью.

Рецидивирующий СБО устанавливали на основании жалоб, анамнестических сведений и данных объективного осмотра, результатов клинико-лабораторных и рентгенологических исследований. На момент обследования прогностический астматический индекс (англ. Asthma Predictive Index) у детей был низким [1, 2].

Иммунологическое исследование включало: определение относительного количества Т- и В-лимфоцитов в периферической крови; исследование фагоцитарного звена иммунитета с определением процента фагоцитоза (ПФ) и индекса фагоцитоза (ИФ), оценкой функциональной активности фагоцитов с использованием спонтанного и индуцированного теста с нитросиним тетразолием (НСТ-тест); изучение в сыворотке крови уровней иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) иммуноэлектрофоретическим методом [3] и интерлейкинов (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8) «сэндвич»-методом твердофазного ИФА с применением коммерческих наборов производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург).

В ходе динамического наблюдения в течение 6 лет из группы исследования выбыли 18 детей по причине смены местожительства (переезд в другой город или страну), и/или отсутствия первичной медицинской документации, и/или отказа родителей от участия детей в исследовании. Таким образом, под наблюдением остались 83 ребенка.

На основании катamnестических данных были выделены 39 детей с благоприятным исходом заболевания (*первая группа* с транзиторным СБО, англ. transient wheeze) и 44 ребенка

с исходом в БА (*вторая группа* с персистирующим СБО, англ. persistent wheeze). Диагноз БА верифицировали в соответствии с национальной программой «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» [1, 2, 4].

В контрольной группе были обследованы 32 условно здоровых ребенка в возрасте от 1 года до 6 лет: 19 (59,4%) мальчиков и 13 (40,6%) девочек. Дети контрольной группы в течение 4 недель, предшествовавших обследованию, не болели вирусными и бактериальными инфекциями.

Исследования проводились на основе собственных наблюдений и данных медицинской документации в соответствии с текущей версией Хельсинкской декларации по медицинским исследованиям [5] при условии отсутствия необходимости в дополнительных заборах крови или амбулаторных посещениях.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием пакета SPSS Statistics 17.0 for Windows (SPSS Inc., США) и Microsoft Office Excel 2007. Описательная статистика представлена в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое значение,  $m$  — среднеквадратичное отклонение. В случае нормального распределения признака использовали количественные переменные. При ненормальном распределении признака и/или малом размере выборки сравнение проводили с помощью непараметрического критерия Манна — Уитни (U) для двух независимых выборок и критерия Краскела — Уоллиса для трех и более независимых выборок. Качественные признаки описаны в виде относительной частоты наблюдений (%). Результаты рассматривали как статистически значимые при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенностью иммунной системы у детей как первой, так и второй группы было изменение фагоцитарной активности. Наиболее выраженные нарушения выявлены в системе фагоцитоза. Они характеризовались снижением ПФ у 17 (43,6%) детей с транзиторным СБО (первая группа) и 18 (40,9%) детей с персистирующим СБО (вторая группа); среднее значение ПФ составило  $49,6 \pm 2,7\%$  и  $48,9 \pm 2,9\%$  соответственно ( $p = 0,800$ ; критерий Краскела — Уоллиса). При этом отмечалось усиление поглотительной функции фагоцитов у детей с рецидивирующим СБО по отношению к контрольному показателю. Так, ИФ был повышен у 33 (84,6%) детей с транзиторным СБО и 36 (81,8%) детей с персистирующим СБО; среднее значение ИФ в первой группе составило  $17,5 \pm 1,1$  усл. ед., во второй группе —  $16,2 \pm 1,2$  усл. ед. (в обоих случаях различия с контролем статистически значимы:  $p = 0,002$  и  $p = 0,020$  соответственно; критерий Манна — Уитни).

Снижение поглотительной функции нейтрофилов, способствующее рецидивированию респираторных инфекций, фиксировано гиперреактивности дыхательных путей, зафиксировано только у 7 (15,9%) пациентов с персистирующим СБО.

Изменения в иммунограмме у детей с рецидивирующим СБО характеризовались усилением функциональных особенностей фагоцитов путем активации кислородозависимых механизмов киллинга у 20 (51,3%) пациентов первой группы и 22 (50,0%) — второй группы. Спонтанный НСТ-тест:  $45,2 \pm 5,5$  усл. ед. (при сравнении с контролем  $p = 0,003$ ; критерий Манна — Уитни) и  $45,4 \pm 5,9$  усл. ед. (при сравнении с контролем  $p = 0,020$ ; критерий Манна — Уитни) в первой и второй группах соответственно. Недостаточность кислородозависимого метаболизма фагоцитов определена у 2 (5,1%) пациентов с транзиторным СБО и 5 (11,4%) — с персистирующим СБО.

У детей сравниваемых групп выявлено повышение резервных возможностей фагоцитов в сравнении с контролем. Так, показатель индуцированного НСТ-теста у детей с транзиторным СБО составил  $69,6 \pm 5,0$  усл. ед. ( $p = 0,040$ ; критерий Манна — Уитни), у детей с персистирующим СБО —  $77,9 \pm 5,2$  усл. ед. ( $p = 0,009$ ; критерий Манна — Уитни). Интересно отметить снижение результатов индуцированного НСТ-теста у 4 (10,3%) пациентов первой группы и 8 (18,2%) — второй группы.

Изучение показателей активности Т- и В-клеточного звена иммунитета у детей с рецидивирующим СБО показало отсутствие статистически значимых отличий обеих основных групп от контроля. Выявленные с помощью рутинных методов диагностики изменения иммунологической реактивности у детей с рецидивирующим СБО не имели межгрупповых различий. Поэтому чрезвычайно важным представлялось исследовать цитокиновую регуляцию врожденного и адаптивного иммунитета с целью изучения цитокинового профиля у детей с транзиторным и персистирующим СБО.

Концентрации IL-4, IL-6, IL-8 в сыворотке крови у обследованных детей статистически значимо различались между группами ( $p < 0,05$ ; критерий Краскела — Уоллиса). Обращает на себя внимание, что у детей с персистирующим СБО показатели IL-4, IL-6, IL-8 были статистически значимо выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ; критерий Манна — Уитни), в отличие от пациентов с транзиторным СБО, у которых из трех названных цитокинов статистически значимые различия обнаружены только по уровню IL-6 (рис. 1–3). Показатель IL-1 $\beta$  в обеих группах исследования был близок к контроль-

ному ( $p > 0,05$ ; критерий Манна — Уитни) (рис. 4). При парном сравнении между первой и второй группами выявлены статистически значимые различия по показателям IL-4, IL-6 и IL-8 ( $p < 0,05$ ; критерий Манна — Уитни): уровень IL-4 в первой группе составил  $4,1 \pm 0,4$  пг/мл, во второй —  $9,9 \pm 1,5$  пг/мл ( $p = 0,001$ ); уровень IL-6 у детей с транзиторным и персистирующим СБО был равен  $11,7 \pm 1,4$  пг/мл и  $15,5 \pm 1,4$  пг/мл соответственно ( $p = 0,025$ ); уровень IL-8 у детей первой и второй групп составил  $5,6 \pm 0,6$  пг/мл и  $10,1 \pm 1,6$  пг/мл соответственно ( $p = 0,004$ ) (см. рис. 1–3).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют, что у детей с персистирующим фенотипом бронхиальной обструкции вне зависимости от пола и возраста статистически значимо повышаются концентрации как провоспалительных (IL-6, IL-8), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4). Клинические данные свидетельствуют о значимости Th2-цитокина IL-4 в поддержании воспаления и формировании бронхиальной гиперреактивности [6–10]. Вместе с тем в ряде исследований показано, что повышение уровней провоспалительных цитокинов является особенностью созревания иммунной системы в раннем возрасте; появляется все больше доказательств того, что экспрессия Th1-цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-8) имеет существенное значение в патогенезе рецидивирующего СБО у детей [10, 11].

В литературе имеются данные, что у детей с рецидивирующим бронхообструктивным синдромом после купирования обструкции сохраняются умеренно высокие уровни

Рис. 1. Уровень IL-4 у детей с транзиторным и персистирующим фенотипами бронхообструкции, пг/мл

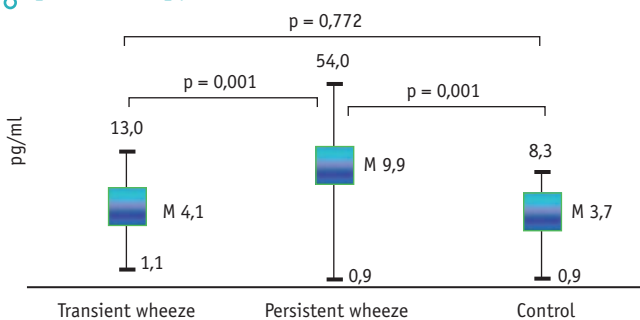


Рис. 3. Уровень IL-8 у детей с транзиторным и персистирующим фенотипами бронхообструкции, пг/мл

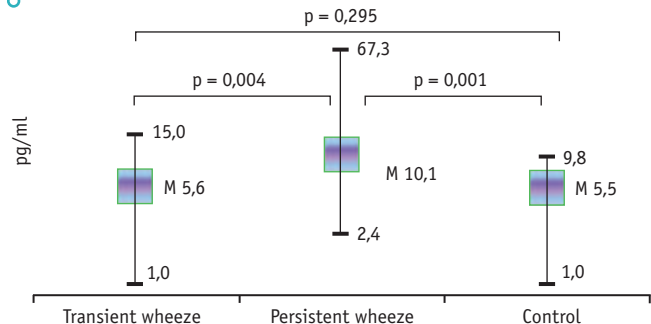


Рис. 2. Уровень IL-6 у детей с транзиторным и персистирующим фенотипами бронхообструкции, пг/мл

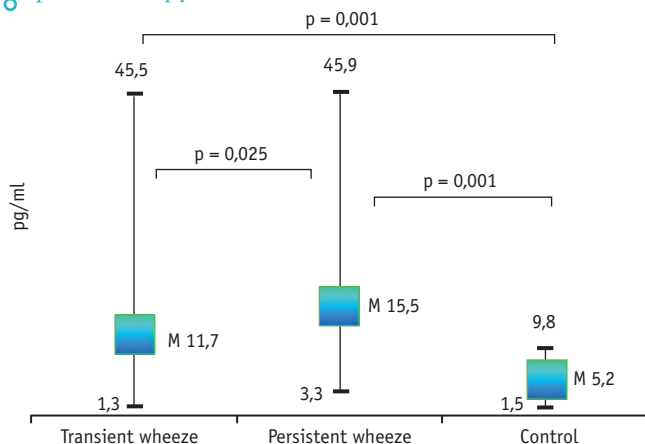
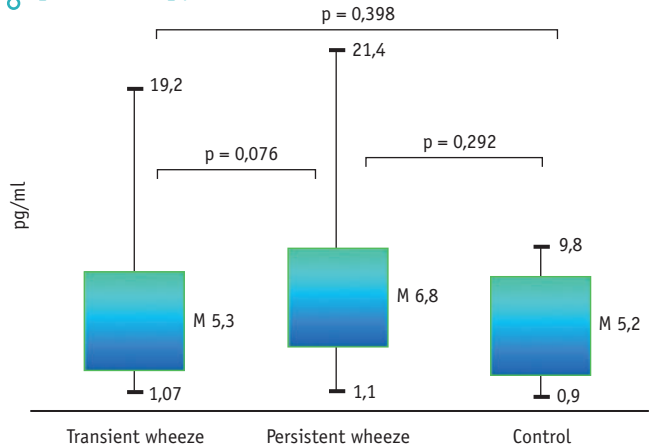


Рис. 4. Уровень IL-1 $\beta$  у детей с транзиторным и персистирующим фенотипами бронхообструкции, пг/мл



провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, способные стимулировать активность моноцитарно-фагоцитарного звена, и адаптивный иммунитет, который, с одной стороны, направлен на потенцирование бактерицидности, а с другой — способствует поддержанию воспаления, приводя к гиперреактивности дыхательных путей [12].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей с персистирующим фенотипом бронхообструкции отмечается экспрессия медиаторов воспаления, инициирующих как Th2-, так и Th1-иммунный ответ. По-видимому,

это объясняется вовлечением в патологический процесс более одного иммунного механизма, запускающего каскад патологических событий, которые направлены на поддержание воспалительных реакций, приводящих к рецидивам бронхообструктивного синдрома.

Высокие уровни IL-4, IL-8 могут быть биомаркерами для исходного фенотипирования рецидивирующего синдрома бронхиальной обструкции у детей раннего и дошкольного возраста с последующим прогнозированием риска развития бронхиальной астмы, что нацелит на персонафицированную профилактику заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2014 г.). Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество; 2015. 148 с. [Global'naya strategiya lecheniya i profilaktiki bronkhial'noi astmy (peresmotr 2014 g.). Per. s angl. pod red. A.S. Belevskogo. M.: Rossiiskoe respiratornoe obshchestvo; 2015. 148 s. (in Russian)]
2. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет; 2017. 160 с. [Natsional'naya programma "Bronkhial'naya astma u detei. Strategiya lecheniya i profilaktika". 5-e izd., pererab. i dop. M.: Original-maket; 2017. 160 s. (in Russian)]
3. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Мед; 2013. 640 с. [Khaitov R.M., Il'ina N.I. Allergologiya i immunologiya. Natsional'noe rukovodstvo. M.: GEOTAR-Med; 2013. 640 s. (in Russian)]
4. Савенкова Н.Д., Джумагазиев А.А., Безрукова Д.А. Рецидивирующий бронхит у детей: состояние проблемы. Астраханский мед. журн. 2014; 9(1): 29–37. [Savenkova N.D., Dzhumagaziev A.A., Bezrukova D.A. Retsidiviruyushchii bronkhит u detei: sostoyanie problemy. Astrakhanskii med. zhurn. 2014; 9(1): 29–37. (in Russian)]
5. WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/> (дата обращения — 10.10.2018).
6. Landgraf-Rauf K., Anselm B., Schaub B. The puzzle of immune phenotypes of childhood asthma. Mol. Cell. Pediatr. 2016; 3(1): 27. DOI: 10.1186/s40348-016-0057-3
7. Fahy J.V. Type 2 inflammation in asthma — present in most, absent in many. Nat. Rev. Immunol. 2015; 15(1): 57–65. DOI: 10.1038/nri3786
8. Kim H., Ellis A.K., Fischer D., Noseworthy M., Olivenstein R., Chapman K.R. et al. Asthma biomarkers in the age of biologics. Allergy Asthma Clin. Immunol. 2017; 13: 48. DOI: 10.1186/s13223-017-0219-4
9. Malmström K., Lehto M., Majuri M.L., Paavonen T., Sarna S., Pelkonen A.S. et al. Bronchoalveolar lavage in infants with recurrent lower respiratory symptoms. Clin. Transl. Allergy. 2014; 4: 35. DOI: 10.1186/2045-7022-4-35
10. Селиверстова Е.Н., Башкина О.А. Инновационные подходы к разработке дифференциально-диагностических и прогностических критериев различных клинико-патогенетических вариантов бронхообструктивных заболеваний у детей. Сб.: Исследования молодых ученых — вклад в инновационное развитие России: доклады молодых ученых в рамках программы «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.»), г. Астрахань, 14–16 мая 2014 г. Астрахань: 92–3. [Seliverstova E.N., Bashkina O.A. Innovatsionnye podkhody k razrabotke differentsial'no-diaagnosticheskikh i prognosticheskikh kriteriev razlichnykh kliniko-patogeneticheskikh variantov bronkhoobstruktivnykh zabolevanii u detei. Sb.: Issledovaniya molodykh uchenykh — vklad v innovatsionnoe razvitiye Rossii: doklady molodykh uchenykh v ramkakh programmy "Uchastnik molodezhnogo nauchno-innovatsionnogo konkursa" ("U.M.N.I.K."), g. Astrakhan', 14–16 maya 2014 g. Astrakhan': 92–3. (in Russian)]
11. Van de Kant K.D., Klaassen E.M., Jöbsis Q., Koers K., Rijkers G.T., van der Grinten C.P. et al. Wheezing in preschool children is associated with increased levels of cytokines/chemokines in exhaled breath condensate. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 26(3): 669–71. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.07.013
12. Романцев М.Г., Мельникова И.Ю., Ершов Ф.И. Респираторные заболевания у часто болеющих детей. Настольный справочник врача. М.: ГЭОТАР-Мед; 2017. 160 с. [Romantsev M.G., Mel'nikova I.Yu., Ershov F.I. Respiratornye zabolevaniya u chasto boleyushchikh detei. Nastol'nyi spravochnik vracha. M.: GEOTAR-Med; 2017. 160 s. (in Russian)] 