

АНАЛИЗ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО НЕЙРОТОКСИНА В КРОВИ И МОЧЕ У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ БРОНХИАЛЬНЫМИ ОБСТРУКЦИЯМИ И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Гаевская Е. А., Ходосовский Н. М.

*Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Реферат. Статья посвящена поиску новых биомаркеров, используемых для верификации диагноза бронхиальной астмы. Отсутствие в настоящее время общепринятого метода диагностики у детей дошкольного возраста, а также критериев для определения пациентов в группу риска по развитию БА определяет актуальность проводимых исследований. По имеющимся оценкам, за последние годы число пациентов с астмой составило около 300 миллионов человек, и было зарегистрировано 455 000 случаев смерти. Низкая масса тела при рождении, недоношенность, воздействие табачного дыма и других источников загрязнения воздуха, а также вирусные респираторные инфекции увеличивают риск развития БА. Соответственно, важно определять пациентов в группу риска по развитию астмы и своевременно диагностировать заболевание на ранних этапах развития.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, эозинофильный нейротоксин.

Введение. Согласно обновленному (GINA-2019) определению, БА является гетерогенным заболеванием, характеризующимся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием

респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди, кашель, которые варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с обструкцией дыхательных путей.

Астма является одним из распространенных заболеваний, которое занимает 5-е место в мире после заболеваний сердца, острого нарушения мозгового кровообращения, онкологических заболеваний и сахарного диабета. Это заболевание, которое значительно снижает качество жизни пациентов и приводит к инвалидности, к развитию жизнеугрожающих состояний, что требует увеличения затрат ресурсов здравоохранения. По данным ВОЗ, около 300 миллионов человек в мире страдает астмой. По эпидемиологическим исследованиям в общей популяции БА болеет до 10 % детей и около 3–4 % взрослых [1]. В 2023 г. в Республике Беларусь зафиксировано 73 219 случаев БА у взрослых, при этом 4 326 случаев — впервые установленные в течение года [0]. БА включена в Глобальный план действий ВОЗ по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними, а также в принятую Организацией Объединенных Наций Повестку дня в области устойчивого развития на период до 2030 г. Основными составляющими программы помощи пациентам с БА в Республике Беларусь являются: обучение пациентов и медицинских работников современным принципам диагностики и лечения астмы; обеспечение пациентов необходимыми современными лекарствами; составление для каждого пациента плана лечения как при стабильном состоянии, так и при обострении болезни; проведение эпидемиологических исследований в стране для выяснения истинной картины распространения астмы и положения дел с эффективностью диагностических и лечебных мер [0].

Немаловажным вопросом является проблема астмы у детей. Обычно заболевание развивается в раннем возрасте. Часто приступы бронхиальной обструкции индуцированы вирусной инфекцией и являются достаточно распространенным и рецидивирующим состоянием у детей до 6 лет [0]. Еще одна часть детей из группы часто болеющих имеют симптомы, похожие на астму, у которых в анамнезе отмечается затяжной кашель после перенесенной острой респираторной инфекции. В данном случае при проведении дифференциальной диагностики большую роль играет лабораторная и инструментальная диагностика астмы, которая у детей дошкольного возраста имеет свои особенности. Спирометрия и пикфлоуметрия не используются у детей до 6 лет в связи с невозможностью правильно выполнять

инструкции. Уровень сенсibilизации к ингаляционным аллергенам в начале заболевания может быть ниже пороговых значений, необходимых для детекции с помощью методов иммуноблоттинга и даже иммунохемилюминесценции, а также при проведении прик-тестов.

Несмотря на отсутствие единых подходов к диагностике БА в раннем возрасте, лечение должно быть своевременным и должно быть направлено на устранение аллергического воспаления слизистой оболочки бронхов, снижение гиперреактивности бронхов, устранение бронхиальной обструкции и предупреждение структурной перестройки стенки бронхов на начальных этапах развития заболевания. Вследствие недостаточной диагностики в раннем возрасте и неадекватной терапии БА представляет собой серьезную проблему здравоохранения во всем мире. Вышеперечисленные факты определяют необходимость поиска ранних методов диагностики аллергической природы заболеваний органов дыхания [0].

Внимание научного сообщества сейчас обращено к специфическим белкам, продуцируемым эозинофилами. В гранулах эозинофилов содержатся биологически активные белки, такие как эозинофильная пероксидаза, большой основной белок, эозинофильный катионный белок и эозинофильный нейротоксин (ЭН). По мнению многих авторов, по уровню ЭН можно судить об активности эозинофильного воспаления, а в некоторых случаях даже прогнозировать течение воспалительного процесса [0]. ЭН может определяться во многих средах: сыворотка крови, мокрота, бронхоальвеолярная жидкость, букальные и назальные соскобы, моча и каловые массы. Показано, что у пациентов с БА отмечаются повышенные уровни ЭН. Причем высокий уровень тесно связан с более тяжелым течением заболевания, а ЭН рассматривается как наиболее точный биомаркер для диагностики, лечения и мониторинга астмы [0].

Цель работы – провести сравнительный анализ содержания ЭН в крови у детей с рецидивирующими бронхиальными обструкциями (РБО) и у пациентов с БА, а также сравнительный анализ ЭН в крови и моче у детей с БА.

Материалы и методы. Для участия в исследовании был включен 61 ребенок в возрасте от 1 до 18 лет. Дети разделены на 2 группы. В группу 1 были включены дети с РБО (n=32), в группу 2 — дети с уточненным диагнозом БА (n=29).

Материалы для исследования: венозная кровь, моча.

Определение концентраций ЭН в сыворотке крови и в моче методом иммуноферментного анализа проводилось на базе научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет». Забор крови из вены проводился в первой половине дня в пробирки с ЭДТА. Сыворотка хранилась в эппендорфах при $t = -24^{\circ}\text{C}$. Моча собиралась в пластиковые контейнеры, после чего хранилась в холодильнике при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. С момента сбора в течение 3–4 ч пробы мочи доставлялись в лабораторию, где их замораживали в эппендорфах для длительного хранения при температуре -24°C .

Поскольку объем разовой порции выделенной мочи был неизвестен, результаты содержания ЭН в моче представлены с пересчетом на креатинин (мкг/ммоль Cr). Статистический анализ выполнен с использованием программы Statistica 10. Количественные переменные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me

$[Q_1; Q_3]$). Качественные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) частотами. Две независимые группы сравнивали с помощью U-критерия Манна–Уитни, проводился непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Статистически значимыми различия в группах были приняты на уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Определена возрастная структура обследуемых групп. Медиана возраста детей 1-й группы составила — 10 лет [4; 12], для 2-й группы — 12 лет [5; 15]. Среди всех обследуемых детей до 10 лет было 48 % (n=29), старше 10 лет — 52 % (n=32). Однако детей в возрасте до 10 лет было больше в первой группе 69 % (n=22), в то время как во второй преобладали дети старше 10 лет — 76 % (n=22), что согласуется с литературными данными о возрастных периодах манифестации БА (рисунок 1) [0].

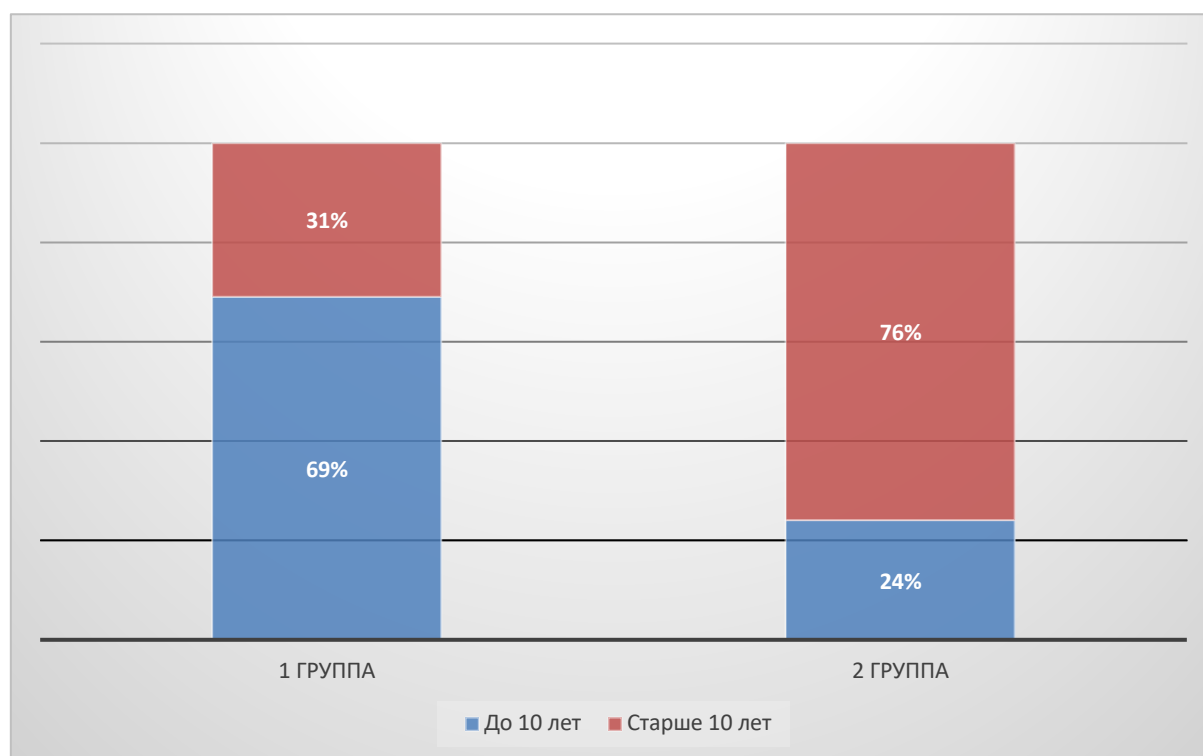


Рисунок 1 – Возрастная структура обследуемых групп

Соответственно, в 1-й группе преобладали дети с длительностью заболевания от начала появления симптомов не более 5 лет, во 2-й группе было больше детей с относительно длительным анамнезом — более 5 лет. В исследуемых группах статистически значимых гендерных различий не выявлено ($p > 0,05$).

Подавляющее число детей (81–86 %) было в периоде ремиссии или в межприступном периоде в обеих группах. Во 2-й группе триггерами бронхиальных обструкций у 56 % обследуемых детей были неаллергенные триггеры (физическая нагрузка, острые респираторные инфекции), а аллергенные (пыльца сезонноцветущих растений, аллергены домашних животных, клещ домашней

пыли) имели значимость у 44 % детей. В 1-й группе примерно у такого же числа детей в качестве триггера были неаллергенные стимулы (59 %), но только у 22 % была определена сенсibilизация к респираторным аллергенам, 19 % пациентов в анамнезе имели пищевую аллергию или триггеры обострений были не определены. Полученные данные свидетельствуют о том, что на ранних этапах у детей основными триггерами, вызывающими обострение и симптомы бронхиальной обструкции, являются вирусные инфекции, а сенсibilизация к респираторным

аллергенам появляется позднее по мере увеличения длительности заболевания. Выявленные особенности сопоставимы с литературными данными [0]. По физическому развитию: межквартильный размах показателя z-score для индекса массы тела в 1-й группе был в пределах нормальных значений, во 2-й группе процент детей с избыточной массой тела был выше.

Существенной разницы в группах по видам вскармливания на первом году жизни также не выявлено (рисунок 2).

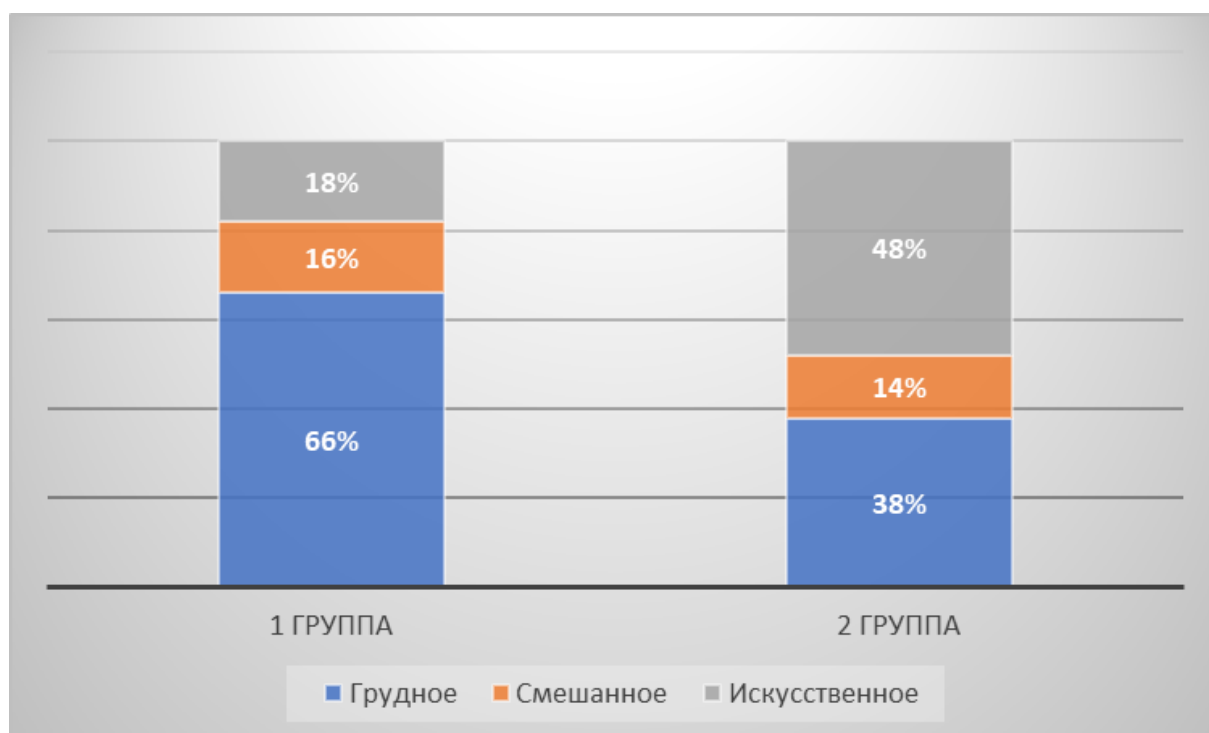


Рисунок 2 – Виды вскармливания на 1-м году жизни у обследуемых пациентов

В обеих группах в подавляющем большинстве случаев (62–66 %) наследственность по аллергическим заболеваниям была не отягощена, только треть пациентов в обеих группах имели отягощенную наследственность по аллергическим заболеваниям.

Также выполнен сравнительный анализ уровня ЭН в крови и моче. В группе детей с РБО медиана концентрации ЭН составила 4,7 [2,82; 5,63] нг/мл; у детей с БА — 5,91 [3,4; 13,66] нг/мл. У части детей 2-й группы (n=15) дополнительно определяли ЭН в моче. Медианный возраст выборки составил 12 [11; 14] лет, количество девочек — 7 пациентов (47 %) значимо не отличалось от количества мальчиков — 8 (53 %).

Группа была репрезентативной.

С помощью корреляционного анализа по Спирмену была обнаружена прямая положительная корреляционная связь средней силы между концентрацией ЭН в крови и его концентрацией в моче ($r=0,57$; $p=0,05$) (рисунок 3).

Это подтверждает правомочность использования в рутинной практике в качестве биоматериала не только крови, но и мочи, что особенно актуально в педиатрии [0].

Проведена сравнительная характеристика содержания ЭН в крови в группе пациентов с РБО и в группе с БА, также проведен анализ влияния внешних факторов на изучаемый показатель.

Концентрация ЭН у детей в группе с БА была выше ($p=0,06$) с тенденцией к достоверности, чем в группе детей с РБО (рисунок 4).

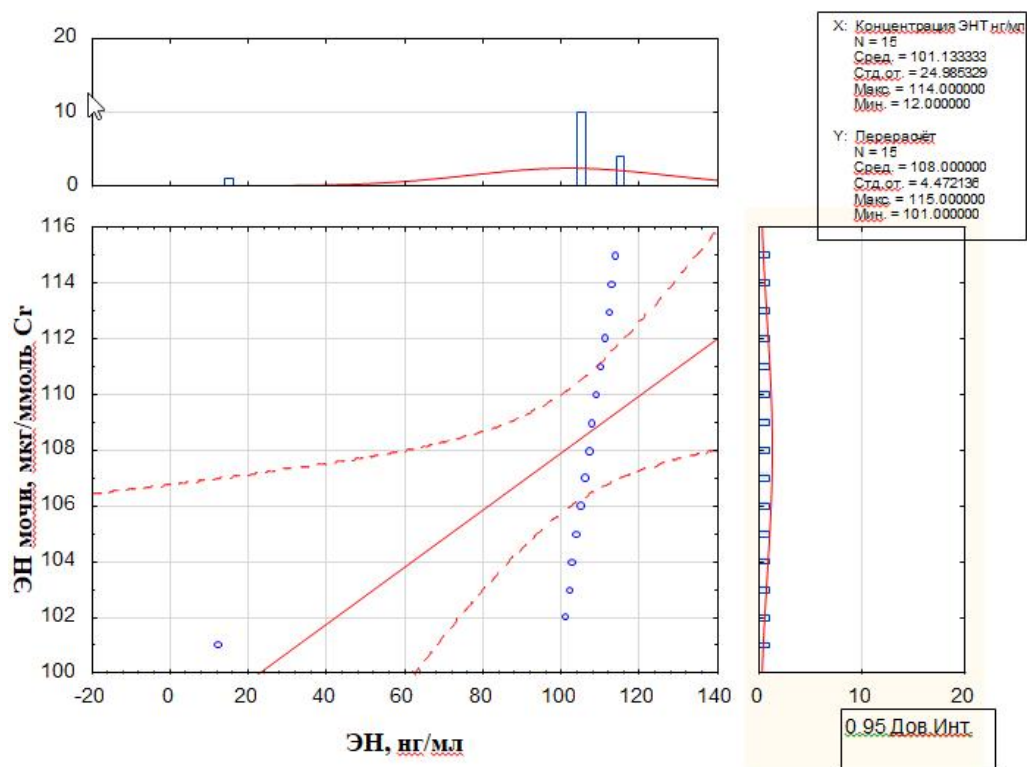


Рисунок 3 – Корреляция концентрации ЭН в крови и моче

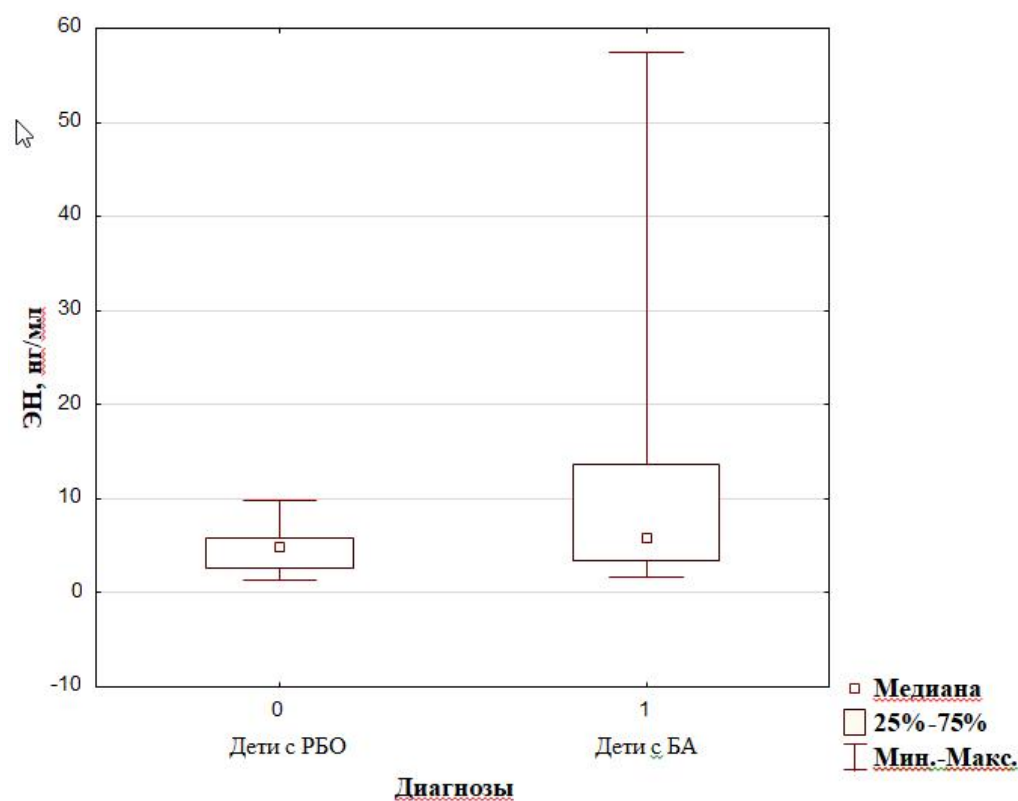


Рисунок 4 – Содержание ЭН в крови у детей с РБО и у детей с БА

Концентрация ЭН не зависела от пола и физического развития детей.

В дальнейшем мы проанализировали содержание ЭН в крови у детей вне зависимости от диагноза в возрастной группе до 10 лет ($n=29$) и в возрастной группе старше 10 лет ($n=32$) и оказалось, что в возрастной группе до 10 лет медиана была значительно ниже (4,2 [2,42; 5,39] нг/мл), чем у детей старшего возраста (5,94 [3,54; 12,33] нг/мл) ($p=0,003$).

Важно отметить, что медиана концентраций ЭН у детей с длительностью заболевания менее 2 лет ($n=10$) составила 1,7 [1,5; 2,2] нг/мл, от 2 до 5 лет ($n=25$) — 4,1 [3,1; 4,9] нг/мл, более 5 лет

($n=26$) — 9,1 [6,0; 15,4] нг/мл. Обнаружена слабая прямая положительная корреляционная связь между длительностью заболевания и концентрацией ЭН в крови ($r=0,25$; $p=0,05$). Соответственно, чем длительнее период заболевания, тем выше концентрация ЭН в сыворотке крови. Вероятно, поэтому концентрация ЭН отличалась у детей в возрастных группах до 10 лет и старше.

В зависимости от фазы заболевания в общей выборке концентрация ЭН не отличалась. Однако у детей с РБО медиана концентрации ЭН была выше ($p=0,028$) в фазу обострения заболевания (18,5 [13,6; 33,5] нг/мл), чем в фазу ремиссии (4,6 [2,7; 5,9] нг/мл) (рисунок 5).

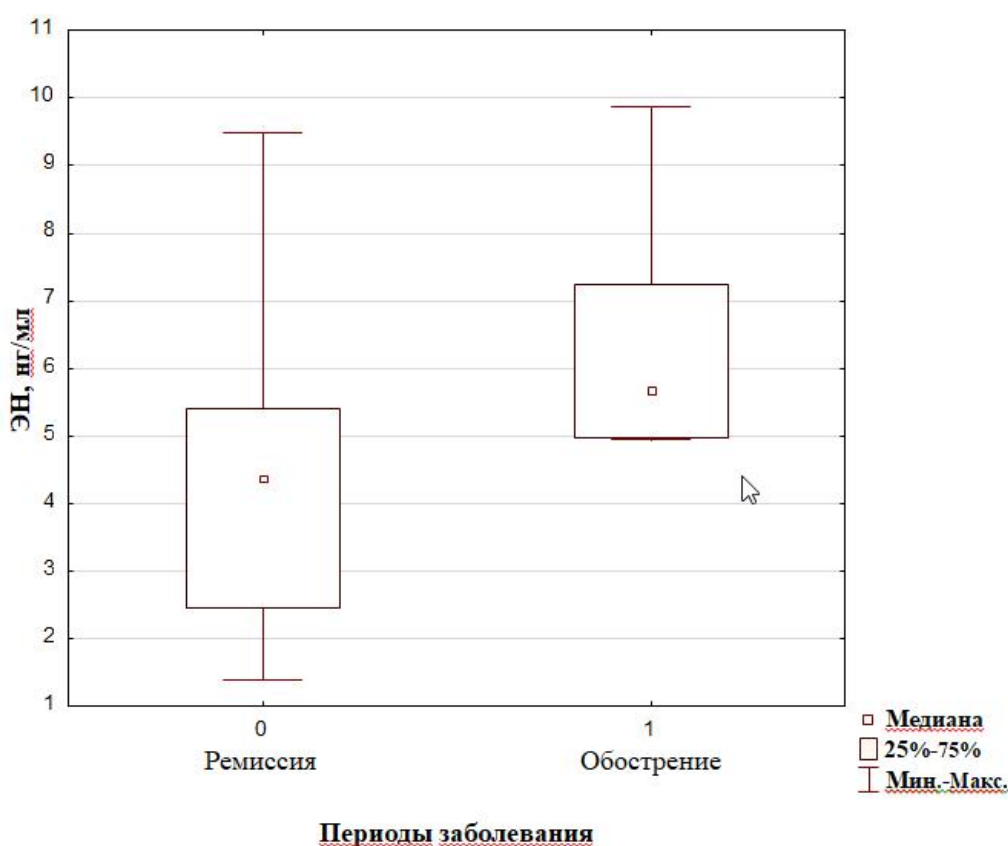


Рисунок 5 – Содержание ЭН в крови в группе детей с РБО в период ремиссии и в период обострения заболевания

В то время как у детей с диагнозом БА концентрация ЭН в различные фазы болезни не отличалась, что, вероятно, обусловлено тем, что дети получали базисное лечение, контролирующее уровень эозинофильного воспаления, в отличие от детей 1-й группы.

Существенной разницы в содержании ЭН в крови в зависимости от вида триггера бронхиальных обструкций и отягощенности семейного анамнеза по аллергии не было выявлено.

В группе детей с длительностью грудного вскармливания до 5 месяцев на первом году жизни содержание ЭН в крови на момент обследования было ниже, чем в группе детей с меньшей длительностью грудного вскармливания или другими видами питания на первом году жизни. Медиана концентрации ЭН у детей, находящихся на грудном вскармливании — 4,1 [2,6; 5,5] нг/мл, на смешанном вскармливании — 5,9 [4,9; 7,3] нг/мл,

на искусственном вскармливании — 6 [3,8; 10,7] нг/мл.

Заключение. На основании полученных данных выявлено: концентрация ЭН у детей в группе с БА выше, чем в группе детей с РБО. Таким образом, увеличение в динамике содержания ЭН у детей с РБО может стать основанием для отбора детей в группу риска развития БА и может использоваться в качестве дополнительного диагностического критерия. Чем длительнее период заболевания, тем выше концентрация ЭН в сыворотке крови, что подтверждает предыдущий вывод. Уровень ЭН у детей с РБО выше в фазу обострения ($p=0,05$), что важно знать для

правильной организации диагностического процесса и анализа динамики ЭН за определенный период времени. Пол, физическое развитие, семейный аллергоанамнез, а также вид триггера не влияли на концентрацию ЭН. Описана прямая положительная корреляционная связь между концентрацией ЭН в крови и его концентрацией в моче ($r=0,57$; $p=0,05$), что подтверждает правомочность использования в рутинной практике в качестве биоматериала не только крови, но и мочи, что особенно актуально в педиатрии. Учитывая полученные результаты, ЭН можно использовать в качестве биомаркера для определения детей в группу риска развития БА.

Список цитированных источников

1. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396. – P. 1204–1222.
2. Проблема бронхиальной астмы в Беларуси [Электронный ресурс] / Министерство Здравоохранения Республики Беларусь. – Режим доступа : <https://minzdrav.gov.by/>. – Дата доступа : 30.07.2024.
3. WHO. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories: non serial Publication. World Health Organization, 2020.
4. Update on virus-induced asthma exacerbations / F. Urbani [et al.] // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* – 2023. – Vol. 19 (10). – P. 1259–1272.
5. Prevalence estimates and risk factors for early childhood wheeze across Europe: the EuroPrevall birth cohort / A. Selby [et al.] // *Thorax*. – 2018. – Vol. 73 (11). – P. 1049–1061.
6. Increase in eosinophil-derived neurotoxin level in school children with allergic disease / Chang-Keun Kim [et al.] // *Asia Pac Allergy*. – 2022. – Vol. 12 (3). – P. 1–9.
7. Eosinophil-derived neurotoxin: a biologically and analytically attractive asthma biomarker / B. Rutten [et al.] // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16 (2). – P. 1–12.
8. From preschool wheezing to asthma: Immunological determinants / K. Laubhahn [et al.] // *Pediatr Allergy Immunol.* – 2023. – Vol. 34 (10). – P. 1–9.
9. The enigma of eosinophil degranulation / T. Fettelet [et al.] // Published online. – 2021. – Vol. 22 (13). – P. 1–19.
10. Urine eosinophil-derived neurotoxin: a potential marker of activity in select eosinophilic disorders / M. A. Makiya [et al.] // *Allergy*. – 2023. – Vol. 78 (1). – P. 258–269.

Analysis of eosinophilic neurotoxin concentration in blood and urine in children with recurrent bronchial obstruction and bronchial asthma

Hayeuskaya E. A., Khodosovski N. M.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

The article is devoted to the search for new biomarkers used to verify the diagnosis of bronchial asthma. The current lack of a generally accepted diagnostic method for preschool children, as well as criteria for selecting patients at risk for the development of bronchial asthma, determines the relevance of the ongoing research.

Keywords: children, bronchial asthma, eosinophilic neurotoxin.

Поступила 05.06.2024