

Ю. О. Матвієнко
ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН БАЗОФІЛІВ КРОВІ У ХВОРИХ
НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського АМН України

Сучасний науковий рівень дозволяє розглядати бронхіальну астму (БА) як хронічне запальне захворювання дихальних шляхів, яке характеризується варіабельною зворотною бронхообструкцією та гіперреактивністю бронхів — підвищеною чутливістю їх до різних подразнюючих стимулів. Основними клітинними елементами запалення є еозинофіли, опасисті клітини, Т-лімфоцити, макрофаги. Запальна природа захворювання, що пов'язана із впливом специфічних і неспецифічних факторів, виявляється в таких морфологічних змінах у стінці бронхів, як інфільтрація клітинними елементами, насамперед еозинофілами; дисфункція війок миготливого епітелію; деструкція епітеліальних клітин аж до десквамації; гіперплазія і гіпертрофія слизових залоз і бокаловидних клітин [1]. У запальному процесі беруть участь також інші клітинні елементи, у тому числі базофіли (Бф) крові. Вони відіграють значну роль в вищевказаних процесах, оскільки однією з ознак запалення при БА є відображення різноманітних комбінацій ефектів базофільних гранулоцитів, які знаходяться в різних функціональних станах, та їх медіаторів [2, 3, 6, 11, 12].

Під функціональним станом базофільних гранулоцитів розуміють здатність цих клітин відповідати на специфічний подразник процесом синтезу та виділення різноманітних медіаторів, що містяться в гранулах Бф та вивільняються з клітин при їх активації (екзоцитоз) [1]. Каталізаторами для запуску механізмів виділення медіаторів, окрім специфічних факторів, можуть бути повсякденні в нашому житті алергени, що в комплексі призводять у хворих на БА до бронхообструкції, зумовленої спазмом гладких м'язів бронхів, набряком бронхіальної стінки та гіперсекрецією бронхіальних залоз [4, 7, 8, 9, 10]. Ключовим моментом алергічної активації базофілів є залучення в цей процес високоафінних рецепторів до Fc-фрагменту імуноглобуліну E, що при наступному зв'язуванні з алергеном приводить до вивільнення медіаторів, які викликають гострі алергічні прояви і сприяють розвитку пізньофазової реакції із залученням клітин запалення. Медіатори, що вивільняються з активованих Бф, умовно можна розділити на дві групи. Першу групу складають речовини, що знаходяться в зв'язаному стані з гранулярним матриксом і міцно пов'язані із гранулою: гепарин, хімаза, триптаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза; другу — ті, що вивільняються швидко при активації клітин: гістамін, еозинофільний хемотаксичний фактор анафілаксії (ЕХФ-А), нейтрофільний хемотаксичний фактор (НХФ), арилсульфатаза А та ін. Крім попередніх медіаторів з активованих клітин вивільняються продукти, що утворюються (переважно з ліпідних попередників) в ході активації клітини. До них відносяться лейкотрієни С₄, Д₄, Е₄, простагландин Д₂, тромбоксан А₂, ендопероксидази G₂, H₂, ФАТ, простагландин генеруючий фактор і базофільний калікреїн анафілаксії. Головним медіатором БФ вважається гістамін. Це нейромедіатор різних фізіо-

логічних функцій — один із центральних ендогенних медіаторів при алергії і запаленнях.

Зрозуміло, що в медичних та наукових закладах неможливо проводити аналіз всіх медіаторів, що вивільняються під час активації з базофілів, але необхідно мати методи, які б дозволили оцінити функціональний стан цих клітин при БА. Тому, для з'ясування функціональних властивостей цих клітин, нами був запропонований новий спосіб їх визначення, оснований на встановленні ступеня прямої дегрануляції базофілів (ДГБ) з використанням якості подразників побутових алергенів.

Мета нашої роботи — вивчення стану базофільних гранулоцитів крові у хворих на різні форми БА та порівняння ступеня прямої дегрануляції базофілів із результатами шкірних проб на однакові алергени для з'ясування відповідності реакції в залежності від діагнозу.

Матеріали і методи

Для вирішення поставлених задач, нами було обстежено 156 хворих на БА, в тому числі 86 — на atopічну бронхіальну астму (АБА) і 70 — на неатопічну бронхіальну астму (НБА) та 30 здорових осіб.

Базофіли крові у хворих на БА виділяли з використанням збагаченої Бф суспензії лейкоцитарних клітин за методом P. Stahl Skov, S. Norn (1977) [13]; функціональний стан базофілів оцінювали методом прямої дегрануляції базофілів, спонтанної (Сп) та активованої алергенами у нашій модифікації [5]. За різницею між цими показниками, а також за різницею між кожним з цих показників та показниками дегрануляції у здорових осіб оцінювали функціональний стан базофільних гранулоцитів крові. Розрізнявали нормальний стан, якщо показники коливаються в межах від 0 до 5 % та позитивний, або активований, стан — при наявності більш ніж 5 % дегранульованих клітин. Для цих тестів нами використовувалися алерген із суміші пилок рослинних компонентів (Рмікст), алерген домашнього пилу (Дп), алерген бібліотечного пилу (Бп), у стандартній концентрації 1000 од. (виробництва м. Вінниця).

Шкірні проби проводилися у 25 пацієнтів хворих на БА з цими ж алергенами за загальноприйнятими методами.

Статистична обробка матеріалу проводилась на персональному комп'ютері IBM Atlon у програмі Excel за допомогою методу варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Відповідно до мети роботи, з одного боку, ми розглядали спонтанну дегрануляцію базофілів, як показник функціональної активності даних ефекторних клітин. З іншого — ми провели навантажувальні тести алергенами для визначення резервної активності Бф і чутливості пацієнтів до них. Для уточнення питання щодо зв'язку ступеня специфічної дегрануляції базофілів із алергологічним анамнезом захворювання, у хворих були проведені шкірні проби з цими ж алергенами.

Порівняльний аналіз шкірного тестування й інтенсивності дегрануляції базофілів показав, що відсоток збігів позитивних шкірних проб і позитивної реакції дегрануляції

базофілів досить високий. Так, для міксту пилка рослин відсоток співпадань дорівнює 78 %, а для алергенів домашнього пилу і бібліотечного пилу — 100 %. Трохи нижчий відсоток збігів негативних шкірних проб і специфічної дегрануляції БФ. Для алергену з рослинного пилку відсоток збігу був досить високим — 94 %, а для алергену домашнього пилу — 53 %, бібліотечного пилу — 69 % (табл. 1).

При обстеженні хворих на БА було відмічено підвищення ($35,52 \pm 2,11$) % спонтанної дегрануляції базофілів на 5–10 % від норми, яка становила ($25,20 \pm 4,80$) %. Це, ймовірно, пояснюється тим, що частота рецепторних взаємодій, яка призводить до виділення медіаторів, підвищується, що призводить до нестабільності мембрани БФ. Це, в свою чергу, веде за собою підвищену реакцію цих клітин на подразник. У даному випадку ми застосували побутові та пилкові алергени, з якими хворі контактують кожен день. Відсоток дегранульованих клітин після активації виріс на 10–30 % відносно норми та на 5–20 % відносно показника спонтанної дегрануляції БФ. Так, при дії на клітини пилкового міксту ступінь ДГБ склала ($36,90 \pm 1,81$) %, домашнього пилу — ($38,10 \pm 2,77$) %, і бібліотечного пилу — ($36,30 \pm 2,09$) %, що є показниками чутливості хворого до застосованого подразника (табл. 2).

Вивчення інтенсивності ДГБ у хворих в залежності від форми БА показало, що при АБА рівень спонтанної дегрануляції практично не відрізнявся від такого в пацієнтів із НБА і склав при АБА — ($33,89 \pm 2,30$) %, а при НБА — ($37,00 \pm 1,78$) %. Що стосується рівней активованої алергенами дегрануляції, то вони значно відрізнялися: на рослинний мікст при АБА він становив ($47,75 \pm 4,56$) %, а при НБА — ($36,24 \pm 2,88$) %, ($p < 0,05$). Аналогічними були і зміни для бібліотечного та домашнього пилу (табл. 2). Це свідчить, що алергени, які повсякденно зустрічаються в нашому житті, є каталізатором для запуску механізмів вивільнення медіаторів, що в комплексі приводить до бронхообструкції, обумовленої спазмом гладких м'язів бронхів, набряком бронхіальної стінки і гіперсекрецією бронхіальних залоз.

Підводячи підсумок, можна сказати, що визначення ступеня специфічної дегрануляції базофілів можна вважати додатковим критерієм діагностики atopічної бронхіальної астми і критерієм чутливості пацієнтів до визначеного виду алергену при даній формі захворювання поза фазою загострення.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бронхиальная астма*. / Под ред. А. Г. Чучалина. — Москва: Агар, 1997.
2. *Гущин И. С.* Опосредованное IgG высвобождение гистамина из базофилов человека // Пат. физиол. и экспер. терапия. — 1983. — № 4. — С. 18–22.
3. *Клиническая иммунология*. / Под редакцией А. В. Караулова. — Москва: МИА, 1999. — 608 с.
4. *Опосредованная активацией тучных клеток индукция in vivo гистамин-высвобождающей активности мононуклеарных клеток периферической крови при atopии* / И. С. Гущин, В. Г. Читаева, В. М. Игнатова, и соавт. // Иммунология. — 1993. — № 2. — С. 25–28.
5. *Пат. Україна, МПК — 7 А 61 В 10/00 G 01 N 33/53.* Спосіб оцінки функціонального стану базофільних гранулоцитів крові у хворих на бронхіальну астму / Когосова Л. С., Матвієнко Ю. О. (Україна). — № 55201 А; Заявл. 18.07.2002, Опубл. 17.03.2003, Бюл. № 3.

Таблиця 1

Порівняльна оцінка прямої дегрануляції базофілів крові і шкірних проб у хворих на бронхіальну астму

Показники шкірних проб			Реакція ДГБ			
Алергени	Знак	n	(+), співпадання (%)		(-), співпадання (%)	
Рослинний мікст	+	9	7	78 %	2	22 %
	—	16	1	6 %	15	94 %
Домашній пил	+	9	9	100 %	0	0 %
	—	17	8	47 %	9	53 %
Бібліотечний пил	+	9	9	100 %	0	0 %
	—	16	5	31 %	11	69 %

Таблиця 2

Функціональні зміни ступеня дегрануляції базофілів крові у хворих на бронхіальну астму

Показники ДГБ	Здорові особи	Хворі на БА	Хворі на АБА	Хворі на НБА
n	30	156	86	70
Сп (-)	$25,20 \pm 1,40$	$35,52 \pm 2,11$ *	$33,89 \pm 2,30$ *	$37,00 \pm 1,78$ *
Рмікст	$26,20 \pm 1,33$	$36,49 \pm 1,81$ *	$47,75 \pm 4,56$ **	$36,24 \pm 2,88$ *
Дп	$25,45 \pm 2,00$	$38,10 \pm 2,77$ *	$48,25 \pm 1,81$ **	$38,27 \pm 2,25$ *
Бп	$27,34 \pm 1,61$	$36,90 \pm 2,09$ *	$45,80 \pm 3,99$ **	$37,15 \pm 2,79$ *

Примітка: * — різниця в порівнянні з групою здорових осіб вірогідна ($p < 0,05$),

• — різниця в порівнянні між групами хворих на АБА і НБА вірогідна ($p < 0,05$).

6. *Фещенко Ю. И.* Бронхиальная астма — одна из главных проблем современной медицины // Укр. пульмонолог. журн. — 2000. — № 2 (додаток). — С. 13–15.
7. *Airway basophil and mast cell density in patients with bronchial asthma: relationship to bronchial hyperresponsiveness* / Koshino T., Arai Y., Miyamoto Y. et al. // Journal of Asthma. — 1996. — Vol. 33, № 2. — P. 89–95.
8. *Basophil and eosinophil differentiation in allergic reaction* / Denburg J. A., Woolley M., Leber B. et al // Journal of Allergy & Clinical Immunology. — 1994. — Vol. 94, № 6, Pt 2. — P. 1135–1141.
9. *Cytokine generation by human basophil* / Schroeder J. T., MacGlashan D. W., White J. M., et al // Journal of Allergy & Clinical Immunology. — 1994. — Vol. 94, № 6, Pt 2. — P. 1189–1195.
10. *Eosinophils and basophils in allergic airway inflammation* / Busse W. W., Sedgwick J. B., Jarjour N. N., Calhoun W. J. // Journal of Allergy & Clinical Immunology. — 1994. — Vol. 94, № 6, Pt 2. — P. 1150–1154.
11. *Mast cell and basophil number in the airway correlate with the bronchial responsiveness of asthmatics* / Koshino T., Arai Y., Miyamoto Y. et al. // International Archives of Allergy & Immunology. — 1995. — Vol. 107, № 1-3. — P. 378–379.
12. *The role of mast cells and basophils in the pathogenesis of bronchial asthma* / Morita Y., Hirai K., Koshino T., Yamaguchi M. // Japanese Journal of Thoracic Diseases. — 1993. — Vol. 31, (Suppl 1). — P. 147–153.
13. *Stahl S., Norn S.* A simplified method for measuring basophil histamine release and blocking antibodies in hay fever patients. Basophil histamine content and cell preservation // Acta Allergol. — 1977. — Vol. 32, N 3. — P. 170–182.

**ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН БАЗОФІЛЬНИХ
ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА
БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ****Ю. О. Матвієнко***Резюме*

Мета роботи — вивчення стану базофілів (Бф) крові у хворих на бронхіальну астму (БА). Досліджена спонтанна дегрануляція базофілів (ДГБ) і проведені навантажувальні тести алергенами для визначення резервної активності Бф і чутливості пацієнтів до даних алергенів, а також шкірні проби з цими ж алергенами. Дослідження проведені у 156 хворих на БА, шкірне тестування було проведено у 25 пацієнтів на БА. На момент обстеження у хворих на БА спостерігався підвищений ступінь спонтанної і активованої алергенами ДГБ на відміну від здорових осіб. Відсоток збігів позитивних шкірних проб і позитивного ступеня ДГБ був майже 100 %. Таким чином визначення ступеня специфічної ДГБ можна вважати додатковим критерієм діагностики БА і критерієм оцінки чутливості пацієнтів до алергенів.

**FUNCTIONAL CONDITION OF BLOOD
BASOPHILES IN BRONCHIAL ASTHMA
PATIENTS****Yu. A. Matvienko***Summary*

The purpose of the study was to analyse a condition of basophiles (B) of blood in bronchial asthma (BA) patients. We studied spontaneous basophile deregulation (BGD) and have conducted the loading tests with allergens for determination of standby activity of B and sensitivity of patients to the allergens. Skin tests with same allergens were also conducted. The study was performed in 156 BA patients. Skin testing was conducted in 25 patients. At the time of examination the higher degree of both spontaneous and induced BGD was observed in BA patients than in normal controls. watched as against able-bodied faces. Positive skin tests and positive BGD coincided in 100 % of cases. Thus, a degree of specific BGD can be considered an additional criterion for BA diagnosis as well as the criterion of allergen sensitisation of the patients.