

616.248.036:612.017.1.001.5

І. Ф. ПЛІНСЬКА, Ю. І. ФЕЩЕНКО, Л. М. КУРИК, І. В. КОПОСОВА, Л. В. АРЕФ'ЄВА
**ВПЛИВ ДЕКСАМЕТАЗОНУ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ
ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ З РІЗНИМ
ПЕРЕБІГОМ ХВОРОБИ**

*ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології
ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»*

Ключові слова: бронхіальна астма.

Неконтрольована бронхіальна астма (БА) залишається у центрі уваги алергологів та пульмонологів усього світу. Попри сучасні досягнення фармакотерапії цієї хвороби до 80 % пацієнтів епізодично, періодично або постійно мають її неконтрольований перебіг. У переважній більшості випадків недосягнення або втрата контролю над БА обумовлені:

– вадами діагностики та лікування (так, лікарями може призначатися неадекватна базисна терапія через відсутність даних регулярної самооцінки хворими за опитувальниками АСТ та/або АСQ, моніторингу клінічних симптомів та функціональних показників, недостатньою компетенцією медичного персоналу тощо);

– низькою комплаєнтністю пацієнтів;

перманентною дією тригерів (алергенів, тютюнового диму, психо-емоційного, фізичного перенавантаження та інших);

– наявністю коморбідної патології (найчастіше це алергічні риніти, синусити, респіраторні інфекції, хронічне обструктивне захворювання легень, ожиріння, неконтрольована гастроєзофагальна рефлюксна хвороба, гормональні порушення, atopічні дерматити) [7], [8], [9], [11], [12], [13], [14].

У таких хворих ретельне клініко-діагностичне обстеження та відповідна корекція лікування дозволяє досягти бажаного контролю БА. У той же час до 20 % хворих з неконтрольованою БА мають справжню резистентність (рефрактерність) до протиастматичних препаратів, що пов'язано з фармакогенетичними особливостями цих пацієнтів. Вони проявляються високими темпами розвитку запалення, некерованою гіперреактивністю бронхів, а також зниженням чутливості до глюкокортикостероїдів (ГКС) – у 20 % випадків, у 15 % – до β_2 -агоністів, у 40 % – до антагоністів рецепторів лейкотрієнів, а кожен 10-й пацієнт з тяжкою неконтрольованою БА зовсім не відповідає на традиційні схеми її лікування [7], [9].

«Золотим стандартом» терапії БА з позиції ефективності та безпеки досі вважаються ГКС. Доведено, що ГКС впливають на імунні та запальні процеси дихальних шляхів за допомогою індукції експресії різних генів, знижують кількість і/або активність клітин запалення (лімфоцитів, макрофагів, опасистих клітин, еозинофілів), впливають на судинну проникність, набряк слизової оболонки, субепітеліальний фіброз, зменшують продукцію слизу у бронхах, сприяють відновленню пошкодженого епітелію тощо [7], [9], [12].

Виділяють дві форми резистентності до ГКС при БА. Найчастіше (в 95 % випадків) зустрічається вторинна (набута) резистентність (тип 1), яка виникає в процесі лікування, має локальний характер, тобто спостерігається в зоні запалення й у більшості випадків є оборотною. Первинна резистентність (тип 2) зустрічається рідко, детермінована генетично, необоротна та характеризується зниженням числа рецепторів до глюкокортикоїдів в різних клітинах. У таких хворих, як правило, відсутні побічні ефекти дії стероїдів [6], [7], [9].

Основною *клінічною ознакою* резистентності до ГКС у хворих на БА вважається незначне (не більше 15 %) підвищення об'єму форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ₁) у відповідь на вдихання β_2 -агоністів короткотривалої дії після 1–2-тижневого прийому преднізолону в дозуванні 40 мг на добу [6], [7], [9]. Для виявлення стероїдної резистентності *in vitro* вже багато років визначають ступінь інгібіції ГКС (дексаметазоном, пульмікортом, гідрокортизоном) проліферативної відповіді лімфоцитів на мітоген – фітогемаглютинін (ФГА) [1], [3], [6].

З огляду на те, що для прогнозування неконтрольованого перебігу БА своєчасне визначення стероїдної резистентності у хворих є вкрай потрібним, *метою* даного дослідження було вивчення впливу дексаметазону на проліферативну активність лімфоцитів периферійної крові у хворих на БА з різним перебігом хвороби – її тяжкістю та контрольованістю.

Для цього передбачалося вирішити такі *задачі*:

– у хворих з різною тяжкістю та контрольованістю БА провести оцінку проліферативної відповіді на ФГА лімфоцитів периферійної крові;

– у хворих з різною тяжкістю та контрольованістю БА провести оцінку проліферативної відповіді на ФГА лімфоцитів периферійної крові у присутності дексаметазону;

– у хворих з різною тяжкістю та контрольованістю БА провести оцінку імуносупресивного впливу дексаметазону на проліферативну активність лімфоцитів периферійної крові.

Матеріали та методи дослідження.

Було проаналізовано результати комплексного клініко-імунологічного обстеження 104 хворих з різним перебігом БА, які перебували на лікуванні в ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України (у т.ч. архівні дані).

Тяжкість та контрольованість БА оцінювали за рекомендаціями GINA 2014/2016: за даними опитувальників АСТ та АСQ-5, показниками функції зовнішнього дихання (ОФВ₁), частотою загострень БА та госпіталізацій з цього приводу за попередній рік, потребою в β_2 -агоністах короткотривалої дії, обсягом терапії, що проводилася, тощо [4], [5], [7], [8], [9], [11], [12], [13].

Розподіл хворих на БА з різною тяжкістю хвороби за статтю та віком наведено у табл. 1. Як свідчать наведені дані, жінки хворіли на БА у 2,5–3 рази частіше, ніж чоловіки, що простежувалося в усіх трьох групах і відповідає гендерним особливостям цієї хвороби. При легкому перебігу БА понад 75,0 % хворих були віком до 50 років, і біля 25,0 % – старших за 50 років. У групі пацієнтів з БА середньої тяжкості відсоток осіб старшої вікової групи збільшувався до 46,3 % і до 79,3 % у групі з тяжким перебігом.

Розподіл хворих на БА з різною її контрольованістю за статтю та віком представлений у табл. 2. Аналіз цих даних показав, що переважну кількість обстежених склали жінки з частково контрольованою БА (75,4 %). У двох інших групах теж переважали пацієнти жіночої статі. Біля 80,0 % хворих були працездатного віку. Звертає на себе увагу те, що серед хворих з контрольованим перебігом БА доля молодих пацієнтів (до 30 років) складала майже третину (27,3 %), у групі хворих з частково контрольованою БА – вона зменшувалася до 16,3 %, а в групі з неконтрольованою БА – вона дорівнювала всього 6,3 %. У той же час представленість у групах з різною контрольованістю БА пацієнтів старшого віку (> 50 років) мала протилежний характер: найменша їх кількість була у групі з контрольованою БА (36,4 %), найбільшою (65,6 %) – у групі з неконтрольованим перебігом хвороби.

Контрольну групу було сформовано з 12 волонтерів – осіб без клінічних ознак інфекційної та соматичної патології (умовно здорових). Їх розподіл за статтю та віком теж представлений у табл. 1 та табл. 2.

Проліферативну активність лімфоцитів оцінювали в культурах цільної крові в реакції бластної трансформації цих клітин з морфологічним обліком результатів [2], [10]. Інкубацію 100 мкл гепаринізованої цільної крові проводили в 5,0 мл повного поживного середовища (середовище 199 з сироваткою крупної рогатої худоби та антибіотиками) протягом 5 діб при 37° С: без додавання будь-яких стимуляторів проліферації (спонтанна проліферація), у присутності стандартного Т-клітинного мітогену (ФГА у дозі 40 мкг/мл) та у присутності ФГА з дексаметазоном (у дозі 0,4 мкг/мл). По завершенні інкубації видаляли надсадкову

рідину, осаді обробляли оцтовою кислотою (5 мл 10 % розчину), центрифугували 5 хвилин при 1500 об/хв., переносили їх на предметні скельця, фіксували метанолом та проводили фарбування за Романовським-Гімза. В кожному препараті підраховували по 300 лімфоцитів, у т.ч. з бластною морфологією та розраховували відсоток останніх. Проліферативну відповідь лімфоцитів на ФГА визначали як різницю між відсотком бластних клітин у пробі з ФГА та у пробі без нього, так само визначали проліферативну відповідь лімфоцитів на ФГА у присутності дексаметазону. Розраховували індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на фітогемаглютинін за формулою:

$$I_{DM} = P_{ФГА+DM} / P_{ФГА} \text{ (у.о.)}, \text{ де:}$$

I_{DM} – індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА;

$P_{ФГА+DM}$ – проліферативна відповідь лімфоцитів на ФГА у присутності дексаметазону;

$P_{ФГА}$ – проліферативна відповідь лімфоцитів на ФГА.

При I_{DM} менше 0,40 інгібуючий вплив дексаметазону на проліферативну відповідь лімфоцитів на ФГА вважали високим, при I_{DM} від 0,40 до 0,75 – помірним, і низьким – при I_{DM} понад 0,75.

Накопичення й статистичну обробку даних було здійснено з використанням ліцензійних програмних продуктів, що входять у пакет Microsoft Office Professional 2003, ліцензія Russian Academic OPEN No Level

№ 17016297. Для перевірки відповідності виборок рядів даних нормальному закону їх розподілення використовували функцію NORMSAMP-1, яка вбудовувалася в середовище Microsoft Excel. У випадках нормального розподілення рядів даних статистична обробка результатів досліджень здійснювалася методами параметричного аналізу. При аналізі тих показників і результатів дослідження, що не підпорядковувалися нормальному розподіленню були використані непараметричні критерії. Для статистичного підтвердження різниці між показниками, які порівнювалися між собою, застосовували відповідно t-критерій Стьюдента та двопараметричний критерій Уїлкоксона. Для статистичного підтвердження різниці між частотними показниками використовували метод альтернативного варіювання [2].

Результати та їх обговорення.

Результати вивчення проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА у хворих з різною тяжкістю БА представлені в табл. 3. Аналіз цих даних продемонстрував, що в усіх трьох групах пацієнтів (з легкою БА, БА середньої тяжкості та тяжкою) відбувалося зниження проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА у порівнянні з показником контрольної групи, яке було статистично підтверджено при тяжкій БА та БА середньої тяжкості. Це могло бути

пов'язано з більш потужною імуносупресивною терапією, яка застосовувалася для лікування цих хворих. Проте міжгрупових відмінностей цього показника виявлено не було.

Проліферативна відповідь лімфоцитів на ФГА у присутності дексаметазону в усіх трьох групах хворих з різною тяжкістю БА від контрольної не відрізнялася, хоча тенденція до її зниження простежувалася досить чітко. Індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА також практично не відрізнявся від контрольного. Серед усіх обстежених хворих на БА високу чутливість лімфоцитів до дексаметазону було визначено тільки у 21 пацієнта (20,2 %), у 57 осіб (54,8 %) вона була помірно зниженою, а 26 пацієнтів (25,0 %) мали ознаки глюкокортикоїдної резистентності. Варто зазначити, що серед хворих на БА з резистентністю їхніх лімфоцитів до дексаметазону у 20 (19,2 %) пацієнтів вона мала відносний характер ($I_{\text{дм}}$ більший 0,74 та менший 1,00), а у 6 пацієнтів (5,8 %) – абсолютний ($I_{\text{дм}}$ 1,00 та більший). Залежності частоти резистентності лімфоцитів хворих до глюкокортикостероїдів від тяжкості хвороби не знайдено (рис. 1).

При вивченні проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА у хворих з різною контрольованістю БА виявлено чітку тенденцію до її зниження у пацієнтів усіх трьох груп. Але статистичне підтвердження було встановлено лише у групі з частково контрольованим перебігом цього захворювання (табл. 3). Це могло бути обумовлено більшою кількістю спостережень саме у цій групі ($n = 61$), тоді як кількість спостережень у двох інших групах була значно меншою ($n = 11$ та $n = 32$, відповідно), а похибки $\tilde{}$ більшими (відповідно $m = 4,5$ та $m = 1,9$).

Пригнічення проліферативної відповіді на ФГА у присутності дексаметазону у порівнянні з контрольною групою умовно здорових осіб було зафіксовано лише у групі пацієнтів з частково контрольованою БА, в групі хворих з контрольованим перебігом хвороби воно не було статистично підтверджено, а в групі обстежених з неконтрольованою БА цей показник від контролю не відрізнявся (табл. 4). Відмінностей індексу пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА у групах хворих на БА з контрольованим та частково контрольованим її перебігом не спостерігалось, тоді як у групі пацієнтів з неконтрольованою БА він виявився достовірно вищим $\tilde{}$ (відповідно $M = 0,66$; $Me = 0,61$ та $M = 0,57$; $Me = 0,54$; $p < 0,05$).

Результати вивчення частоти високого, помірного та зниженого впливу дексаметазону на стимульовану ФГА проліферативну активність лімфоцитів хворих на БА з різною її контрольованістю представлені на рис. 2. Як свідчать наведені дані, у більшості хворих усіх трьох груп мало місце зниження чутливості лімфоцитів до дексаметазону: лише у 9,0 % пацієнтів з контрольованою БА та у 12,5 % з неконтрольованим її перебігом інгібіція

дексаметазоном проліферативної відповіді на ФГА виявилася високою. Серед хворих з частково контрольованим перебігом БА високу чутливість лімфоцитів до дексаметазону мали 24,6 % пацієнтів ($p < 0,05$). Низький вплив дексаметазону на стимульовану ФГА проліферативну активність лімфоцитів спостерігався практично у третини хворих на БА з частково контрольованим та неконтрольованим її перебігом, що свідчить про наявність у них резистентності до ГКС. Звертає на себе увагу те, що практично у кожного десятого пацієнта з контрольованою БА також мала місце резистентність до дексаметазону, що може обумовлювати у них недостатню ефективність монотерапії із застосуванням інгаляційних ГКС і, у недалекому майбутньому, втрату контролю над хворобою. Таким пацієнтам доцільно як можна раніше проводити комбіновану терапію з використанням інших протиастматичних препаратів (β_2 -агоністів тривалої дії, антагоністів рецепторів лейкотрієнів та інших).

Як вже було зазначено вище, у хворих на БА, які отримують ГКС, знижується активність лімфоцитів, у т.ч. їх проліферативна відповідь на мітогени. Тому у хворих на БА було проведено вивчення впливу дексаметазону на проліферативну відповідь лімфоцитів на ФГА в залежності від її вихідного рівня. Аналіз отриманих даних (рис. 3) продемонстрував підвищення на 17,5 % середнього індексу пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на ФГА у хворих на БА зі зниженим її вихідним рівнем у порівнянні з групою пацієнтів з референтними значеннями цього показника ($M = 0,57$; $Me = 0,71$ та $M = 0,57$; $Me = 0,58$; $p < 0,05$). Частота резистентності лімфоцитів до ГКС у хворих на БА зі зниженою проліферативною активністю лімфоцитів, стимульованою ФГА, була у 4,2 рази вищою, ніж у групі порівняння (рис. 4) відповідно $33,3 \% \pm 8,2 \%$ та $7,8 \% \pm 3,1 \%$ ($p < 0,01$). Отже, можна очікувати, що у цих пацієнтів подальше збільшення дози ГКС не буде призводити до поліпшення їх клінічного стану. Проте воно може суттєво підвищити ризик виникнення ускладнень, обумовлених глюкокортикостероїдами. Це стосується усіх 26 хворих з резистентністю до ГКС, а особливо тих шістьох, хто мав абсолютну рефрактерність лімфоцитів до дексаметазону.

Висновки

1. Продемонстровано, що ознаки резистентності лімфоцитів до глюкокортикостероїдів мали місце у 25,0 % хворих на бронхіальну астму: у 5,8 % випадків вона була абсолютною, у решти 19,2 % випадків – відносною.

2. Установлено, що частота резистентності лімфоцитів хворих до глюкокортикостероїдів не залежить від тяжкості бронхіальної астми.

3. Резистентність лімфоцитів до глюкокортикостероїдів спостерігалася практично у третини хворих на бронхіальну астму з частково контрольованим і неконтрольованим її перебігом та у кожного десятого пацієнта з контрольованою БА. Це може обумовлювати у цих пацієнтів недостатню ефективність монотерапії із застосуванням інгаляційних глюкокортикостероїдів і втрату контролю над хворобою.

4. Серед хворих на бронхіальну астму зі зниженою проліферативною відповіддю лімфоцитів на фітогемаглютинін резистентність до глюкокортикостероїдів виявлялася у 4 рази частіше, ніж у пацієнтів з референтними рівнями цього показника (відповідно у 33,3 % та 7,8 %). У цих хворих збільшення дози глюкокортикостероїдів є недоцільним через високу ймовірність відсутності терапевтичного ефекту та підвищення ризику виникнення ускладнень.

Робота виконана за кошти державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Выявление антиген-специфических гормонорезистентных лимфоцитов крови для прогнозирования эффективности глюкокортикоидной терапии бронхиальной астмы / А. А. Калашникова и др. // Медицинская иммунология 2011. Т. 13, № 2–3, С. 157–166 : URL : <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2011-2-3-155-166> (дата звернення: 06.06.2018).
2. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. Киев : Морион, 2000. 320 с.
3. Методы подбора иммуномодулирующих препаратов : метод. рекомендации / Е. Ф. Чернушенко и др. КНИИФП. Киев, 1985. 25 с.
4. Неконтрольована бронхіальна астма : сучасний стан проблеми / Ю. І. Фещенко, І. Ф. Ільїнська, Л. В. Ареф'єва, Л. М. Курик // Астма та алергія. 2018. № 2. С. 2025.
5. Наказ МОЗ України від 08.10.2013 № 868 "Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при бронхіальній астмі". Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Бронхіальна астма». Київ : МОЗ України. 54 с.
6. Обследование больных бронхиальной астмой для диагностики стероидной резистентности с учетом клинико-иммунологических и генетических особенностей с целью оптимизации эффективности лечения : метод. рекомендации / Н. И. Ильина и др. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии». Москва, 2017. 22 с. : URL : <http://www.kb51.ru/pdf/medrek.pdf> (дата звернення: 06.06.2018).
7. Позднякова О. Ю. Клинико-фенотипическая характеристика неконтролируемой бронхиальной астмы и персонализированный подход к диагностике и лечению в амбулаторно-поликлинических условиях : дис. ... докт. мед. наук., Ставрополь. 2016. 305 с. : URL: http://stgmu.ru/userfiles/depts/scientist/Diss.Pozdnyakova_O.Yu._na_sajt.pdf (дата звернення: 09.05.2017).
8. Романюк Л. И. Внедрение рекомендаций GINA-2015, 2014 в клиническую практику // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2015. № 5–6. С. 84–85 : URL : <http://health-ua.com/article/6356-vnedrenie-rekomendatcij-GINA2015-2014-v-klinicheskuyu-praktiku-interaktivny> (дата звернення: 05.05.2017).
9. Трофимов В. И., Миронова Ж. А. Терапевтически резистентная бронхиальная астма : URL : http://www.rusvrach.ru/articles/vrach/2012/vrach_03_2012_Trofimov.pdf.] (дата звернення: 05.05.2017).

10. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения : метод. рекомендации / КНИИФП. Киев, 1988. 18 с.
11. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы : URL : <http://www.spulmo.ru/download/BB1.pdf> (дата звернення: 28.04.2018).
12. Фенотипы и состояния бронхиальной астмы с неконтролируемым течением / Д. Ю. Рузанов и др. // Проблемы здоров'я и экологии. 2016. № 5. С. 34–38 : URL : <https://cyberleninka.ru/article/v/fenotipy-i-sostoyaniya-bronhialnoy-astmy-s-nekontroliruemym-techeniem> (дата звернення: 05.05.2017).
13. Global Initiative for Asthma. Workshop Report, 2014 : URL : <http://www.ginasthma.com/download.asp?intId=217> (дата звернення: 08.07.2018).
14. 2018 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention : URL : <http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/> (дата звернення: 08.07.2018).

Розподіл хворих на бронхіальну астму з різною її тяжкістю за статтю та віком

| Групи обстежених | | Стать | | Вік | | | | | |
|-------------------------|---|----------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | | чоловіки | жінки | всього | до 30 | 31-50 | 51-70 | >70 | всього |
| Контрольна | n | 4 | 8* | 12 | 0 | 6 | 6 | 0 | 12 |
| | % | 33,3 | 66,7* | 100,0 | 0,0 | 50,0° | 50,0° | 0,0♦♦ | 100,0 |
| З легкою БА | n | 6 | 15 | 21 | 7 | 9 | 4 | 1 | 21 |
| | % | 28,6 | 71,4* | 100,0 | 33,3 | 42,9° | 19,0°♦ | 4,8°♦♦ | 100,0 |
| З БА середньої тяжкості | n | 16 | 38 | 54 | 8 | 21 | 24 | 1 | 54 |
| | % | 29,6 | 70,4* | 100,0 | 14,8 | 38,9° | 44,4° | 1,9♦♦ | 100,0 |
| З тяжкою БА | n | 5 | 24 | 29 | 0 | 6 | 20 | 3 | 29 |
| | % | 17,2 | 82,8* | 100,0 | 0,0 | 20,7° | 69,0°♦ | 10,3° | 100,0 |

Примітка 1. * – гендерні відмінності статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 2. ° – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком до 30 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 3. ♦ – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком 31-50 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 4. • – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком 51-70 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Розподіл хворих на бронхіальну астму з різною її контрольованістю за статтю та віком

| Групи обстежених | | Стать | | | Вік | | | | |
|------------------------------|---|----------|-------|--------|-------------------|-------|---------|---------|--------|
| | | чоловіки | жінки | всього | до 30 | 31-50 | 51-70 | >70 | всього |
| Контрольна | n | 4 | 8 | 12 | 0 | 6 | 6 | 0 | 12 |
| | % | 33,3 | 66,7* | 100,0 | 0,0 | 50,0° | 50,0° | 0,0♦♦ | 100,0 |
| З контрольованою БА | n | 4 | 7 | 11 | 3 | 4 | 4 | 0 | 11 |
| | % | 36,4 | 63,6* | 100,0 | 27,3 | 36,4 | 36,4 | 0,0°♦♦ | 100,0 |
| З частково контрольованою БА | n | 15 | 46 | 61 | 10 | 23 | 27 | 1 | 61 |
| | % | 24,6 | 75,4* | 100,0 | 16,4 [×] | 37,7° | 44,3° | 1,6°♦♦ | 100,0 |
| З неконтрольованою БА | n | 8 | 24 | 32 | 2 | 9 | 17 | 4 | 32 |
| | % | 25,0 | 75,0* | 100,0 | 6,3 [×] | 28,1° | 53,1°♦× | 12,5°♦× | 100,0 |
| Всього | n | 27 | 77 | 104 | 15 | 36 | 48 | 5 | 104 |
| | % | 26,0 | 74,0* | 100,0 | 14,4 | 34,6 | 46,2 | 4,8 | 100,0 |

Примітка 1. * – гендерні відмінності статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 2. ° – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком до 30 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 3. ♦ – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком 31-50 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 4. ° – різницю показника у порівнянні з показником відповідної групи обстежених віком 51-70 років статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Примітка 5. [×] – різницю показника у порівнянні з показником групи хворих з контрольованою БА статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Проліферативна активність лімфоцитів хворих на бронхіальну астму з різною її тяжкістю

| Групи обстежених | Показники | | | | | |
|--|-----------|-------|------|------|------|------|
| | n | M | m | Me | Min | Max |
| Проліферативна відповідь лімфоцитів на фітогемаглютинін з дексаметазоном (%) | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 66,6 | 2,2 | 71,5 | 52,7 | 72,0 |
| З легкою БА | 21 | 59,1 | 3,4 | 60,7 | 21,3 | 74,7 |
| З БА середньої тяжкості | 54 | 58,0* | 1,6 | 60,7 | 22,0 | 81,0 |
| З тяжкою БА | 29 | 61,2* | 1,7 | 62,5 | 39,0 | 75,0 |
| Проліферативна відповідь лімфоцитів на фітогемаглютинін з дексаметазоном (%) | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 38,0 | 1,1 | 37,8 | 33,0 | 44,0 |
| З легкою БА | 21 | 35,1 | 2,6 | 35,7 | 16,3 | 55,0 |
| З БА середньої тяжкості | 54 | 34,9 | 2,1 | 2,1 | 65,0 | 5,0 |
| З тяжкою БА | 29 | 35,6 | 2,0 | 35,5 | 12,0 | 63,0 |
| Індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на фітогемаглютинін | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 0,57 | 0,02 | 0,54 | 0,52 | 0,68 |
| З легкою БА | 21 | 0,62 | 0,04 | 0,67 | 1,08 | 0,25 |
| З БА середньої тяжкості | 54 | 0,60 | 0,04 | 0,63 | 1,23 | 0,02 |
| З тяжкою БА | 29 | 0,60 | 0,04 | 0,60 | 1,18 | 0,18 |

Примітка 1. * – різницю показника у порівнянні з показником контрольної групи статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Проліферативна активність лімфоцитів хворих на бронхіальну астму з різною її контрольованістю

| Групи обстежених | Показники | | | | | |
|---|-----------|-------|------|------|------|------|
| | n | M | m | Me | Min | Max |
| Проліферативна відповідь лімфоцитів на фітогемаглютинін (%) | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 66,6 | 2,2 | 71,5 | 52,7 | 72,0 |
| З контрольованою БА | 11 | 58,7 | 4,5 | 64,5 | 23,3 | 71,2 |
| З частково контрольованою БА | 61 | 58,1* | 1,5 | 60,6 | 21,3 | 78,0 |
| З неконтрольованою БА | 32 | 61,1 | 1,9 | 62,4 | 22,0 | 81,0 |
| Проліферативна відповідь лімфоцитів на фітогемаглютинін з дексаметазоном (%) | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 38,0 | 1,1 | 37,8 | 33,0 | 44,0 |
| З контрольованою БА | 11 | 34,9 | 3,6 | 33,3 | 16,3 | 49,3 |
| З частково контрольованою БА | 61 | 33,3* | 1,8 | 36,0 | 5,0 | 61,7 |
| З неконтрольованою БА | 32 | 38,6 | 2,2 | 35,6 | 20,3 | 70,0 |
| Індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на фітогемаглютинін (у.о.) | | | | | | |
| Контрольна | 12 | 0,57 | 0,02 | 0,54 | 0,52 | 0,68 |
| З контрольованою БА | 11 | 0,60 | 0,04 | 0,62 | 0,25 | 0,80 |
| З частково контрольованою БА | 61 | 0,58 | 0,03 | 0,63 | 0,02 | 1,18 |
| З неконтрольованою БА | 32 | 0,66* | 0,04 | 0,61 | 0,29 | 1,23 |

Примітка 1. * – різницю показника у порівнянні з показником контрольної групи статистично підтверджено ($p < 0,05$).

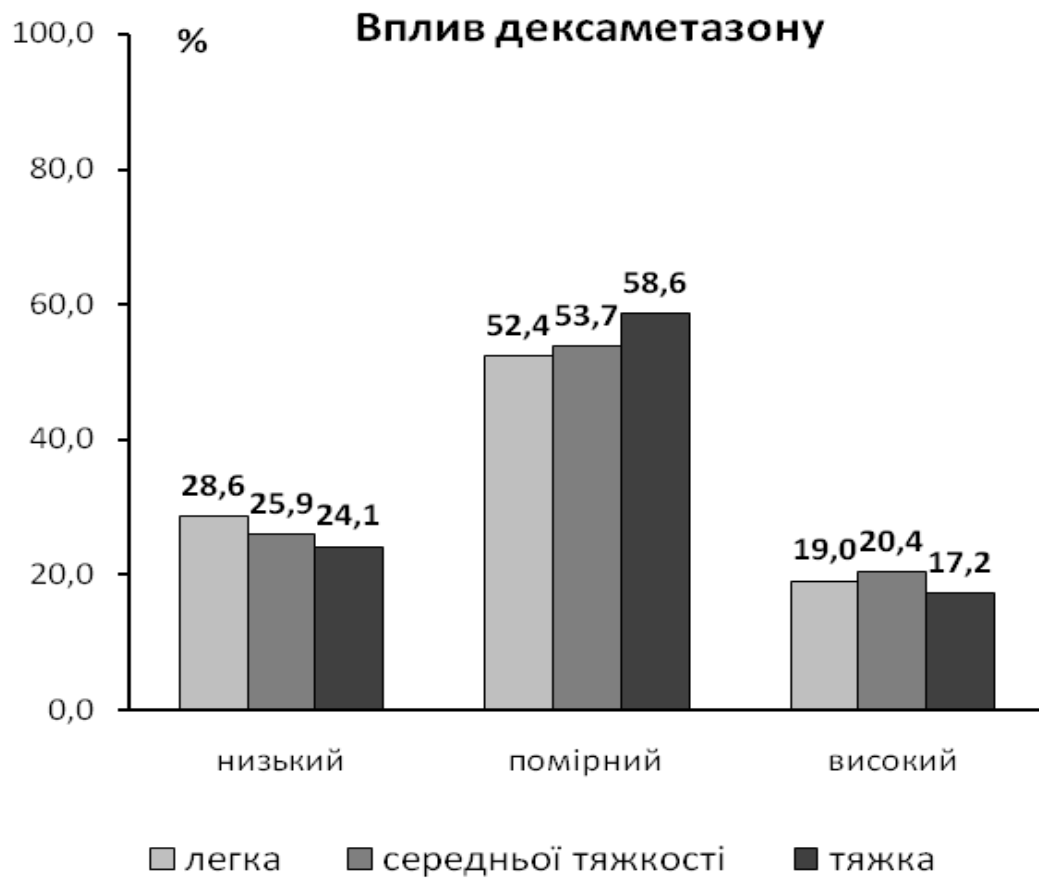


Рис. 1. Вплив дексаметазону на проліферативну активність лімфоцитів, стимульовану фітогемаглютиніном, у хворих з різною тяжкістю бронхіальної астми

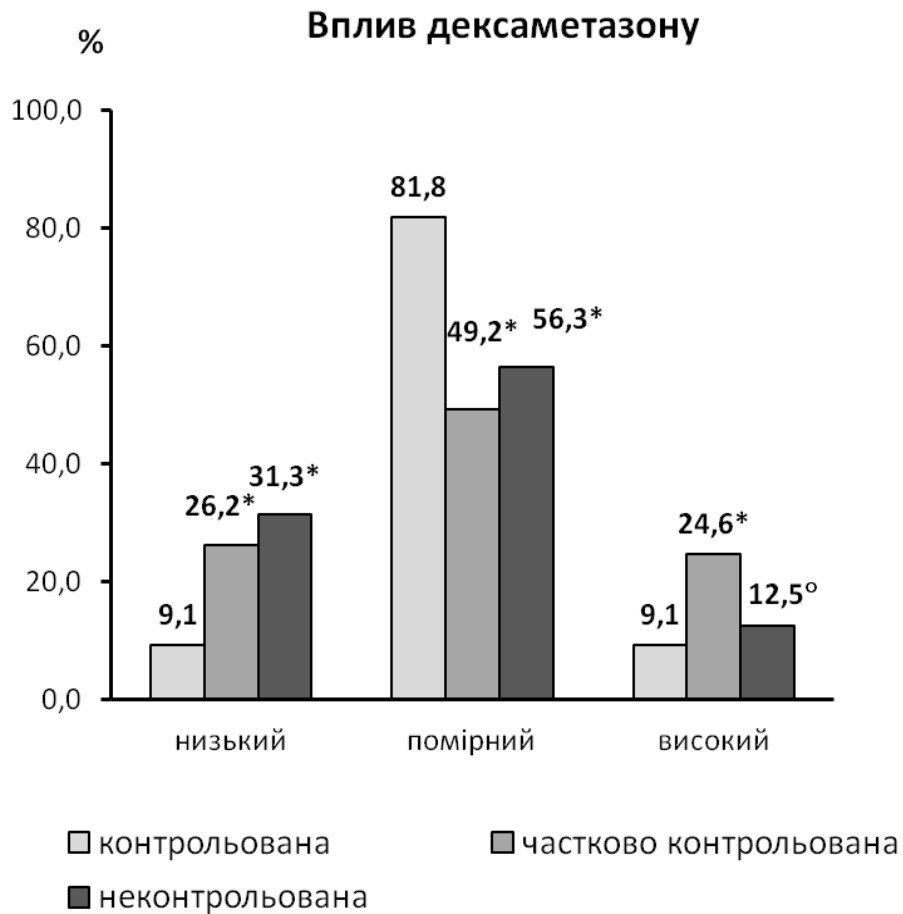


Рис. 2. Вплив дексаметазону на проліферативну активність лімфоцитів, стимульовану фітогемаглютиніном, у хворих з різною контрольованістю бронхіальної астми,

де * – різницю показника у порівнянні з показником групи хворих з контрольованою бронхіальною астмою статистично підтверджено ($p < 0,05$),

° – різницю показника у порівнянні з показником групи хворих з частково контрольованою бронхіальною астмою статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Індекс пригнічення дексаметазоном
проліферативної відповіді лімфоцитів на
фітогемаглютинін

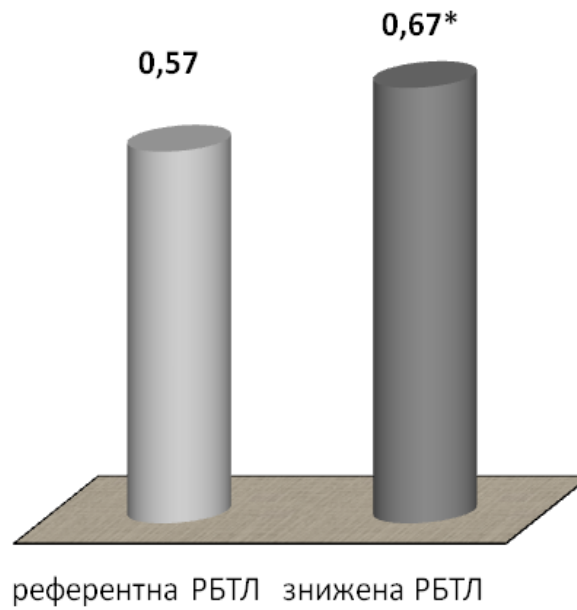


Рис. 3. Індекс пригнічення дексаметазоном проліферативної відповіді лімфоцитів на фітогемаглютинін у хворих на бронхіальну астму з різним її вихідним рівнем, де * – різницю між показниками статистично підтверджено ($p < 0,05$).

Частота резистентності лімфоцитів до глюкокортикоїдів

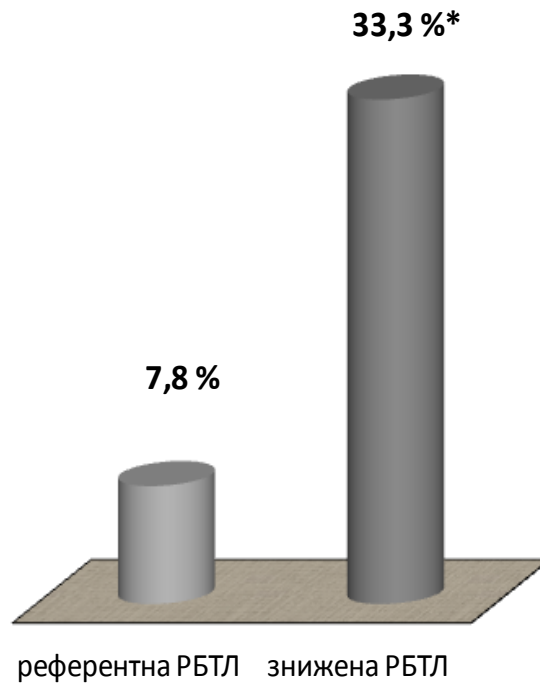


Рис. 4. Частота резистентності до глюкокортикостероїдів у хворих на бронхіальну астму з різним вихідним рівнем проліферативної відповіді лімфоцитів на фітогемаглютинін, де * – різницю між показниками підтверджено статистично ($p < 0,05$).

РЕЗЮМЕ

И. Ф. Ильинская, Ю. И. Фещенко, Л. М. Курик, И. В. Копосова, Л. В. Арефьева

Влияние дексаметазона на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови у больных бронхиальной астмой с различным течением болезни

ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии

им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины»

Обоснование. Несмотря на современные достижения фармакотерапии бронхиальной астмы (БА) до 80 % пациентов эпизодически, периодически или постоянно имеют ее неконтролируемое течение. Истинная резистентность к противоастматическим препаратам определяется у 20 % и у каждого пятого из них – к глюкокортикостероидам. Поэтому своевременное выявление стероидной резистентности у больных БА для прогнозирования ее неконтролируемого течения крайне важно.

Целью данного исследования было изучение влияния дексаметазона (ДМ) на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови у больных БА с различным течением болезни – ее тяжестью и контролируемостью.

Материалы и методы исследования. Были проанализированы результаты комплексного клинико-иммунологического обследования 104 больных. Контролируемость и тяжесть БА оценивали по рекомендациям GINA. Контрольная группа была сформирована из 12 волонтеров – лиц без клинических признаков инфекционной и соматической патологии (условно здоровых). Пролиферативный ответ лимфоцитов на фитогемагглютинин без ДМ и в его присутствии определяли в культурах цельной крови в реакции бластной трансформации этих клеток с морфологическим учетом результатов. Рассчитывали индекс влияния ДМ по формуле $I_{\text{ДМ}} = \text{П}_{\text{ФГА} + \text{ДМ}} / \text{П}_{\text{ФГА}}$ (у.е.), где $\text{П}_{\text{ФГА} + \text{ДМ}}$ – пролиферативная ответ лимфоцитов на ФГА в присутствии дексаметазона, $\text{П}_{\text{ФГА}}$ – пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА. При $I_{\text{ДМ}}$ меньше 0,40 ингибирующее влияние дексаметазона на пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА считали высоким, при $I_{\text{ДМ}}$ от 0,40 до 0,75 – умеренным и низким – при $I_{\text{ДМ}}$ более 0,75.

Результаты. Продемонстрировано снижение пролиферативного ответа лимфоцитов на ФГА при тяжелой БА и БА средней тяжести. Установлено, что высокую чувствительность лимфоцитов к ДМ имел 21 больной (20,2%), у 57 (54,8%) она была умеренно пониженной, а 26 (25,0%) пациентов имели признаки глюкокортикостероидной резистентности, частота которых не зависела от тяжести болезни. Среди больных БА с резистентностью к ДМ в 20 случаях (19,2%) она имела относительный характер, а у 6 пациентов (5,8%) – абсолютный.

Резистентность к ГКС была установлена у трети больных с частично контролируемой и неконтролируемой БА и у каждого десятого пациента с контролируемой. Это может обуславливать у них недостаточную эффективность монотерапии с применением ингаляционных ГКС и, в недалеком будущем, потерю контроля над болезнью. Установлено, что среди больных БА с пониженным пролиферативным ответом лимфоцитов на ФГА их резистентность к ГКС встречалась в 4 раза чаще, чем у больных с референтными уровнями пролиферативной активности лимфоцитов – соответственно в $33,3 \% \pm 8,2 \%$ и $7,8 \% \pm 3,1 \%$ случаев ($p < 0,01$). Вероятно, что у этих пациентов дальнейшее увеличение дозы ГКС не будет приводить к улучшению их клинического состояния. Однако оно может существенно повысить риск возникновения осложнений, обусловленных глюкокортикостероидами. Это касается всех 26 больных с резистентностью к ГКС, особенно тех шестерых, кто имел абсолютную рефрактерность лимфоцитов к ГКС.

Ключевые слова: бронхиальная астма, контролируемость, резистентность к глюкокортикостероидам, пролиферативная активность лимфоцитов.

ABSTRACT

I. F. Ilyinskaya, Y. I. Feshchenko, L. M. Kuryk, I. V. Kuposova, L. V. Arefyeva

Effect of dexamethasone on the proliferative activity of peripheral blood lymphocytes in patients with bronchial asthma with various course of the disease

SO «National Institute Phthysiology and Pulmonology named after F. G. Yanovsky of NAMS of Ukraine»

Objective. Despite modern advances in the pharmacotherapy of bronchial asthma, up to 80 % of patients occasionally, periodically or permanently have its uncontrolled course. True resistance to anti-asthmatic drugs is defined in 20 % and for every fifth of them to glucocorticosteroids. Therefore, timely detection of steroid resistance in patients with BA to predict its uncontrolled course is extremely important.

The purpose of this study was to investigate the effect of dexamethasone (DM) on the proliferative activity of peripheral blood lymphocytes in BA patients with varying course of the disease – its severity and controllability.

Materials and methods. The results of a complex clinical and immunological examination of 104 patients were analyzed. The controllability and severity of asthma were evaluated according to GINA recommendations. The control group was formed from 12 volunteers – persons without clinical signs of infectious and somatic pathology (conditionally healthy). Proliferative lymphocytes response to phytohemagglutinin without DM and in its presence was determined in whole blood cultures in the blast transformation reaction of these cells with a morphological account of the results. The index of DM influence was calculated with the formula using: $I_{DM} = P_{FGA+DM} / P_{FGA}$, where P_{FGA+DM} is the proliferative response of lymphocytes to PHA in the presence of dexamethasone, P_{FGA} is the proliferative response of lymphocytes to PHA. When an I_{DM} is less than 0,40, the inhibitory effect of dexamethasone on the proliferative response of lymphocytes to PHA was considered as high, when an I_{DM} is 0,40-0,75 inhibitory effect is estimated as moderate and low when an I_{DM} is greater than 0,75.

Results. A decrease of the proliferative response of lymphocytes to PHA in patients with severe BA and moderate severity BA was demonstrated. It was found that 21 (20.2 %) patients had high lymphocyte sensitivity to dexamethasone, it was moderately reduced in 57 (54.8%), and 26 (25.0%) had signs of glucocorticosteroid resistance the frequency of which did not depended on disease severity. Among BA patients with resistance to DM in 20 cases (19.2%), it had a relative character, and in 6 patients (5.8%) it was absolute.

Resistance to GCS was detected in a third part of patients with partially controlled and uncontrolled asthma and every tenth patient with a controlled one. This may cause them to inadequate effectiveness of monotherapy with inhaled glucocorticosteroids usage and the loss of disease control in the near future.

It was demonstrated that among BA patients with a reduced proliferative response of lymphocytes to PHA, their resistance to GCS was in 4 times more frequent than in patients with reference levels of proliferative activity of lymphocytes: respectively, $33.3\% \pm 8.2\%$ and $7.8\% \pm 3.1\%$ ($p < 0.01$). Probable in these patients a further increase of GCS dose will not resulted in an improvement in their clinical status. However, it can significantly increase the risk of complications caused by glucocorticosteroids. This is applies to all 26 patients with GCS resistance, especially to those six who had absolute refractory lymphocytes to the GCS.

Key words: bronchial asthma, control, resistance to glucocorticosteroids, lymphocytes proliferative activity.