

14 лет в 40% случаев были обнаружены специфические фрагменты ДНК *M. hominis*, *U. urealyticum*, *G. vaginalis*; причем *M. hominis* и *G. vaginalis* встречались, по нашим данным, только у девочек, больных пиелонефритом. ДНК CMV и HSV I, II типов была обнаружена у 2 детей, больных пиелонефритом. Клинический материал, полученный от детей с острыми и хроническими формами гломерулонефрита, не содержал ДНК ни одного из вышеперечисленных патогенов.

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой частоте встречаемости атипичных микроорганизмов (преимущественно в виде микстинфекций) у детей с различной патологией, требующей лечения в условиях стационара. Однако, учитывая ограниченность выборки и специфику обследованного контингента, нельзя считать, что полученные данные отражают истинную картину частоты инфицирования детей данными микроорганизмами. Было бы целесообразно провести широкомасштабные исследования в нескольких районах Московской области на амбулаторных контингентах (практически здоровые и длительно и часто болеющие дети). Поскольку «оппортунистические» инфекции ассоциируются с иммунной недостаточностью необходимо обязательное исследование иммунного статуса с последующей иммунореабилитацией и иммунопрофилактикой. Результаты такого исследования были бы весьма актуальны для совершенствования организации медицинской помощи детям Московской области.

• **Интерпретация результатов.** Несмотря на достаточно высокую информативность ПЦР, при интерпретации ее результатов нередко возникают сложности, особенно если больной неоднократно обследовался в разных лабораториях различными методами. Чем

можно объяснить такие расхождения? О причинах ложноположительных и ложноотрицательных результатов было сказано выше. Наличие антител при отрицательных результатах прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) или ПЦР может быть связано с ранее перенесенной инфекцией («антитела-свидетели») либо с локализацией возбудителя в органах, недоступных для взятия материала. Отсутствие антител на фоне положительной ПИФ или ПЦР может указывать на самое начало инфекционного процесса, когда антительный ответ еще не развился, на латентную инфекцию, а также может быть следствием иммуносупрессии или слабой иммуногенности возбудителя.

Поэтому в настоящее время многие специалисты [1, 5, 11, 14] сходятся на том, что для верификации диагноза необходимо использовать комплекс методов лабораторной диагностики. Только в этом случае они будут существенным подспорьем для врача-клинициста в самых различных областях медицины. Еще большие возможности открывают методики, которые будут внедрены в клиническую практику в самое ближайшее время. Но чтобы правильно пользоваться таким инструментом, необходимо иметь представление о преимуществах, недостатках и «подводных камнях» этих методов. Нередко в алгоритм обследования больного приходится включать несколько лабораторных тестов. К сожалению, применение не сертифицированных тест-систем, нарушение правил забора, хранения, транспортировки материала и самой методики, недостаточный профессионализм врачей-лаборантов вносят большую путаницу в интерпретацию результатов. Поэтому постановка диагноза всегда должна проводиться с учетом клинико-anamnestических данных и результатов других видов исследований [17], а в терапевтической тактике следует не переходить той грани, когда начинают лечить анализы, а не больного.

#### ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatrjournal.ru> № 5/2006, приложение № 7.

© Коллектив авторов, 2006

О.Н. Комарова<sup>1</sup>, Н.М. Шилина<sup>1</sup>, Н.Н. Погосий<sup>2</sup>, Т.С. Окунева<sup>2</sup>,  
Ю.А. Мизерницкий<sup>2</sup>, И.Я. Конь<sup>1</sup>

### РОЛЬ ЛЕЙКОТРИЕНОВ 4 И 5 В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

<sup>1</sup> ГУ НИИ питания РАМН,

<sup>2</sup> ФГУ «Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Росздрава», Москва

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии исследованы спектр и уровень высвобождения лейкотриенов (ЛТ) 4-й и 5-й серии из лейкоцитов периферической крови у 71 ребенка в возрасте 7—12 лет, страдающих бронхиальной астмой (БА) различной тяжести, и у 8 их условно

здоровых сверстников. При сравнительном анализе полученных данных выявлено увеличение высвобождения ЛТ всех групп у детей с БА по сравнению со здоровыми детьми, причем увеличение уровня  $LTE_4$  было достоверным ( $p=0,018$ ). Также были отмечены сдвиги в уровнях ЛТ при различной тяжести заболевания. Наиболее высокое среднее суммарное значение сульфидопептидных ЛТ 4-й серии и, в особенности,  $LTC_4$  (отличия достоверны по сравнению с группой среднетяжелых и тяжелых больных) выявлено у больных с легкой БА, не получавших базисной терапии. У пациентов с тяжелой БА наблюдалось снижение количества  $LTC_4$  и  $LTD_4$  и увеличение количества  $LTE_4$  ( $p=0,03$  по сравнению с группой здоровых детей). Полученные результаты отражают, по-видимому, особенности течения БА и лечебного действия двух групп современных препаратов — кромогликатов и ингаляционных кортикостероидов.  $LTD_5$  был повышен в сравнении с  $LTD_4$  у всех обследованных групп детей. Наблюдалось уменьшение соотношения  $LTB_4/LTB_5$  от 6:1 у здоровых детей и больных с легкой формой БА до 3,5:1 и 2:1 у пациентов со среднетяжелой и тяжелой БА. Полученные данные об изменении различных классов ЛТ могут быть использованы для дальнейшей разработки патогенетически обоснованных подходов, направленных на нормализацию иммунных и метаболических процессов в организме у детей с БА. Одним из таких подходов является назначение детям с БА  $\omega$ -3 полиненасыщенных жирных кислот — источника ЛТ 5-й серии.

Leukotrienes (LT) spectrum and level of LT 4 and 5 series release from peripheral blood leukocytes were determined by method of high-performance liquid chromatography in 71 children aged 7—12 years old with bronchial asthma (BA) of different severity and in 8 conditionally healthy children in the same age. Comparison analysis of examination data showed increased release of all the LT in children with BA in comparison with control, and  $LTE_4$  increasing was significant ( $p=0,018$ ). Changes of LT levels occurred in cases of different BA severity. Most high amount mean level of sulphidopeptide LT 4 series, especially  $LTC_4$ , occurred in patients with mild bronchial asthma without basic therapy (difference with patients with moderate and severe asthma was significant). Patients with severe BA demonstrated decreased level of  $LTC_4$  and  $LTD_4$ , increased  $LTE_4$  ( $p=0,03$ ) in comparison with healthy children. These results reflect, probably, peculiarities of BA course and therapeutic effect of two groups of anti-inflammatory drugs-chomoglycates and inhaled corticosteroids.  $LTD_5$  was increased in comparison with  $LTD_4$  in all groups of examined children. Patients with BA demonstrated decreased  $LTB_4/LTB_5$  ratio (6:1 in control group and in patients with mild BA, 3,5:1 and 2:1 in patients with moderate and severe BA correspondingly). These data about changes in different LT classes can be used in outwork of new pathogenetically proved approaches to normalization of immune and metabolic processes in organisms of children with BA. One of these approaches is usage of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids — source of LT 5 series.

Бронхиальная астма (БА) относится к числу широко распространенных заболеваний детского возраста и характеризуется тяжелым прогрессирующим течением, существенно снижающим качество жизни больных детей. В связи с этим исследование патогенеза БА, как необходимой основы дальнейшего совершенствования методов ее лечения, сохраняет свою актуальность, несмотря на многочисленные работы в этом направлении как отечественных, так и зарубежных авторов. Среди различных направлений этих исследований важное место занимает анализ возможной роли в развитии аллергической реакции широкого спектра медиаторов (гистамина, триптазы, нейтрофильного хемотаксического фактора и др.). К их числу принадлежат и лейкотриены (ЛТ), представленные значительным числом производных  $\omega$ -6 (ЛТ 4-й серии) и  $\omega$ -3 (ЛТ 5-й серии) полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) — арахидоновой и эйкозапентаеновой соответственно. Установлено, что ЛТ — вновь образуемые воспалительные медиаторы аллергических реакций, синтезируемые в том числе в ответ на IgE-опосредованную активацию тучных клеток, базофилов, эозинофилов, нейтрофилов, тромбоцитов, альвеолярных макрофагов [1—3]. Они обладают бронхосократительной активностью, в сотни раз превосходящую гистамин [4]. Известно участие

ЛТ в развитии как раннего, так и позднего аллергического ответов, а также неспецифической гиперреактивности [5—8]. Значительное число работ посвящено изучению роли ЛТ в патогенезе БА, причем наиболее изучены ЛТ 4-й серии — производные арахидоновой кислоты [9—14]. Было отмечено, что уровень ЛТ в сыворотке больных с аллергическими заболеваниями повышен в 3—5 раз в сравнении со здоровыми взрослыми людьми [15], причем уровень этих медиаторов в приступном периоде БА значительно превышал таковой в межприступном [16—17]. Были выявлены отличия в спектре и количестве высвобождаемых ЛТ 4-й серии в зависимости от нозологической формы аллергического заболевания и от тяжести течения. Так, по данным Н.Н. Погосий [18], у детей с atopической БА и atopическим дерматитом достоверно повышался уровень высвобождения  $LTC_4$  под воздействием фактора активации тромбоцитов (ФАТ) при тяжелой форме заболевания. Эти исследования проводились, однако, в 80—90-х годах прошлого столетия, когда поступающие в клинику больные БА не получали современной базисной терапии препаратами кромоглициевой кислоты и ингаляционными кортикостероидами (ИКС). При этом сравнительная оценка спектра ЛТ у детей с БА и их здоровых сверстников,

необходимая для понимания возможной патогенетической роли ЛТ в развитии БА, до настоящего времени не проводилась.

Как отмечено, ЛТ представлены большим числом соединений, являющихся производными разных классов ПНЖК. Важно подчеркнуть, что ЛТ быстро метаболизируются в тканях, что еще в большей степени увеличивает число их производных, которые обладают разной активностью. В частности, одними из возможных путей метаболизма ЛТ является превращение ЛТА<sub>4</sub> и ЛТА<sub>5</sub> в ЛТВ<sub>4</sub> и ЛТВ<sub>5</sub>, либо в их сульфидопептидные производные — ЛТС<sub>4</sub> и С<sub>5</sub>, D<sub>4</sub> и D<sub>5</sub>, E<sub>4</sub> и E<sub>5</sub> соответственно.

Несмотря на то, что источники литературы указывают на одинаковую направленность действия сульфидопептидных ЛТ 5-й серии — ЛТС<sub>5</sub>, ЛТD<sub>5</sub>, ЛТЕ<sub>5</sub> и 4-й серии — ЛТС<sub>4</sub>, ЛТD<sub>4</sub>, ЛТЕ<sub>4</sub>, данные о сравнительной биологической активности этих ЛТ неоднозначны. Так, при исследовании перитонеальных макрофагов грызунов и позднее интактных человеческих тромбоцитов указывается на равную биологическую активность сульфидопептидных ЛТ 5-й и 4-й серии [19, 20]. В то же время, при использовании в качестве модели кишки морской свинки отмечено, что ЛТС<sub>4</sub> является более сильным констриктором, чем ЛТС<sub>5</sub> [21]. Сравнительный анализ действия сульфидопептидных ЛТ 4-й и 5-й серий у больных с аллергией не проводился. Что касается ЛТВ, то выявлены существенные различия в биологической активности ЛТВ 4-й и 5-й серий. Биологическая активность ЛТВ<sub>5</sub> в 10—30 раз ниже активности ЛТВ<sub>4</sub> как у здоровых, так и у больных [22], причем в ряде исследований было установлено улучшение состояния больных БА под влиянием дополнительного введения с пищей предшественников ЛТ 5-й серии — ω-3 ПНЖК. В пользу возможной связи лечебного эффекта ω-3 ПНЖК при БА с изменением соотношения ЛТ 4-й и 5-й серий говорит работа, в которой установлено, что при введении в рацион рыбьего жира спортсменам, страдающим постнагрузочным бронхоспазмом, обнаружено 30% снижение высвобождения ЛТВ<sub>4</sub> и 50% увеличение высвобождения ЛТВ<sub>5</sub> из полиморфноядерных лейкоцитов, стимулированных ионофором Са<sup>++</sup> А23187. Это сопровождалось значительным снижением уровня постнагрузочного бронхоспазма [23]. Однако вопрос о соотношении ЛТ 4-й и 5-й серий у здоровых детей и больных БА остается малоизученным. В то же время ответ на этот вопрос может стать патогенетическим обоснованием целесообразности обогащения рациона детей с БА ω-3 ПНЖК в целях повышения эффективности терапии.

Целью настоящей работы явилось изучение роли ЛТ 4-й и 5-й серий в патогенезе БА.

В связи с намеченной целью мы поставили следующие задачи: исследовать уровни высвобождения ЛТ 4-й и 5-й серий из лейкоцитов периферической крови у здоровых детей и у детей с БА; сравнить уровни высвобождения ЛТ 4-й и 5-й серий из лейкоцитов

периферической крови у детей с БА разной степени тяжести.

#### Материалы и методы исследования

Обследован 71 ребенок, из них 63 ребенка с БА и 8 условно здоровых детей в возрасте 7—12 лет. У 63 детей, наблюдавшихся в отделении хронических воспалительных и аллергических заболеваний легких ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии Росздрава» в 2001—2002 гг. и в детском клиническом санатории «Искорка» в 2004—2005 гг. (Валуево, Московская область), была диагностирована БА. Контрольную группу составили 8 условно здоровых детей (5 мальчиков, 3 девочки) с отрицательным аллергологическим анамнезом, не имевших клинических и лабораторных (анализы крови и мочи) признаков воспалительных процессов.

Всем детям с БА проведено комплексное обследование с использованием общеклинических, функциональных, рентгенологических и лабораторных методов исследования.

При анализе анамнестических данных у 46 больных отмечена наследственная отягощенность по аллергическим заболеваниям. В семьях детей наиболее часто встречались БА (у 23 больных), поллиноз (у 11 больных), лекарственная и пищевая аллергия (у 12 больных).

У 38 из 63 детей с БА были выявлены сопутствующие аллергические заболевания, среди которых аллергический ринит (у 28 больных), атопический дерматит (у 4 больных).

Больные БА были разделены на 3 группы в зависимости от тяжести заболевания — легкая, среднетяжелая и тяжелая форма БА. Тяжесть БА оценивали в соответствии с критериями, изложенными в программе «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» [24].

Группу больных с легкой БА составили 14 детей (5 девочек, 9 мальчиков). Эпизоды бронхоспазма в данной группе больных отмечались 2—4 раза в год, чаще в осенне-весенний период. Важно, что обследуемые этой группы не получали базисной терапии.

В группе больных со среднетяжелой БА наблюдались 17 детей (5 девочек, 12 мальчиков). Приступы удушья были ежемесячными у половины из числа этих больных, у остальных носили эпизодический характер — 2—8 раз в год. Больные данной группы получали в качестве базисной терапии препараты хромоглициевой кислоты.

Группа больных с тяжелой БА наиболее многочисленная — 32 ребенка (7 девочек, 25 мальчиков). У 5 больных данной группы эпизоды бронхоспазма наблюдались 2—3 раза в неделю, а у 7 больных отмечались ежедневные приступы удушья, причем на фоне постоянного приема ИКС. У остальных приступы астмы носили эпизодический характер и наблюдались круглогодично.

При рентгенологическом обследовании больных со среднетяжелой и тяжелой формой заболевания

были выявлены признаки обструктивного синдрома, интерстициального отека, бронхита у большинства больных даже в межприступном периоде заболевания.

При исследовании функции внешнего дыхания (ФВД) у большинства больных отсутствовали выраженные вентиляционные нарушения, что, вероятно, связано с адекватной базисной терапией. Лишь у 3 пациентов с тяжелым течением БА отмечалось снижение  $ОФВ_1$  до 60%.

Результаты специальных исследований свидетельствовали о значимости атопии в формировании БА у наблюдавшихся больных. Исследование уровня IgE выявило его увеличение в сыворотке крови у 37 из 41 больного ребенка. Специфические IgE-антитела были обнаружены у 24 из 27 обследованных больных, IgG (преципитины) были выявлены у 5 из 9 обследованных детей. У всех детей наблюдалась полисенсibilизация к аллергенам нескольких групп, за исключением одного ребенка с моносенсibilизацией к аллергенам домашней пыли.

Для оценки гуморального иммунитета проводили определение уровня сывороточных IgA, M, G (методом радиальной иммунодиффузии). Осуществляли количественное определение общего IgE (в МЕ/мл). Для выявления причинно значимых аллергенов проводили полуколичественную оценку специфических IgE к пыльцевым, бытовым, эпидермальным и грибковым аллергенам методом твердофазного иммуноферментного анализа. Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) исследовали методом осаждения их в 3,5% растворе полиэтиленгликоля [25]. Нормальный уровень ЦИК соответствует 0—110 у.е.

Материалом специальных исследований служили лейкоциты, получаемые из гепаринизированной (50 ЕД/мл) венозной крови. Выделение лейкоцитов проводили с использованием 10% раствора желатина.

При исследовании способности клеток к высвобождению ЛТ лейкоциты венозной крови отмывали раствором Тироде, осаждали центрифугированием (1000 об/мин, 10 мин, ЦЛК-1) и ресуспендировали в 1 мл этого же раствора. После подсчета клеток в камере Горяева  $10^7$  лейкоцитов инкубировали с 1 мкмолем синтетического ФАТ С 16 («Sigma») [26, 27] в конечном объеме 1 мл в водяной бане при 37 °С в течение 10 мин. После стимуляции пробы центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин.

Экстракцию ЛТ проводили по Clancy и Nugli [28]. К 1 мл супернатанта добавляли 0,5 мл изопропанола, 0,03 мл 5N раствора муравьиной кислоты, через 5 мин — 1,5 мл диэтилового эфира. После разделения фаз верхнюю (органическую) отбирали, добавляли 0,022 мл 25%  $NH_4OH$ , пропускали через мембранные фильтры «Nuoprog» (0,22 мкл) в центрифужных системах «Alltech» (США) и выпаривали досуха в роторном испарителе «Savant» SVC 100 («Savant», США). Сухой остаток хранят в жидком азоте.

Спектр и количество ЛТ определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на колонке Kromasil 5M C 18 (0,5x250) при использовании насосов Binary HPLC Pump 1525 (Waters), УФ детектора Waters 2487, хроматографического программного обеспечения «Бриз». Определение проводили в системе ацетонитрил — уксусная кислота — вода в соотношении 50:0,05:50 по объему (pH=3,7), при скорости потока 1,5 мл

в мин и чувствительности детектора 0,01—0,02 ед., при 280 нм [29]. В качестве стандартов использовали препараты синтетических ЛТВ<sub>4</sub>, С<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>, В<sub>5</sub>, D<sub>5</sub> («Sigma», США). Количество ЛТ выражали в нг на  $10^7$  лейкоцитов.

Результаты проведенных исследований статистически обработаны с применением методов вариационной статистики с использованием метода Краскела—Уоллиса, непараметрического критерия Манна—Уитни. Использован лицензионный стандартный пакет статистических программ SPSS 14.

### Результаты и их обсуждение

Как видно из рис. 1, у здоровых детей были выявлены ЛТ как 4-й, так и 5-й серии (рис. 1). Из ЛТ 4-й серии у всех здоровых детей определялись ЛТВ<sub>4</sub> и ЛТС<sub>4</sub>, тогда как ЛТD<sub>4</sub> обнаружен лишь у одного ребенка в количестве менее 1 нг, а ЛТЕ<sub>4</sub> не определялся ни в одном случае. В то же время, ЛТ 5-й серии обнаруживались у всех здоровых детей. При этом ЛТВ<sub>5</sub> определялся у 6 из 8, а ЛТD<sub>5</sub> — у всех детей, что не подтверждает данные литературы о наличии ЛТ 5-й серии в крови здоровых людей только после интервенции ω-3 ПНЖК [30].

У детей, страдающих атопической БА, также наблюдалось высвобождение ЛТ и 4-й, и 5-й серии. В качестве примеров представлены хроматограммы ЛТ, высвобождаемых из лейкоцитов периферической крови (ВЛПК) у ребенка с тяжелой формой БА в сравнении с показателями здорового ребенка (рис. 2).

При сравнительном анализе группы детей с БА и здоровых выявлено увеличение высвобождения ЛТ всех групп (рис. 3), причем уровень высвобождения сульфидопептидных ЛТ у больных детей превалировал над их уровнем у здоровых. Как упоминалось ранее, сульфидопептидные ЛТС<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub> являются основными компонентами МДВ-А [12, 31]. В связи с этим можно говорить о существенной роли этих медиаторов в развитии патофизиологической стадии иммунопатологических реакций по Gell и Coombs [32].

При анализе уровня отдельных групп ЛТ в супернатанте стимулированных лейкоцитов у детей с атопической БА по сравнению со здоровыми детьми обнаружен достоверно более высокий уровень ЛТЕ<sub>4</sub> (рис. 3).

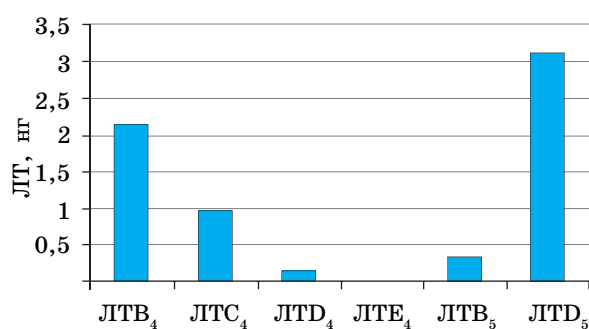


Рис. 1. Уровень ЛТ 4 и 5 у здоровых детей.

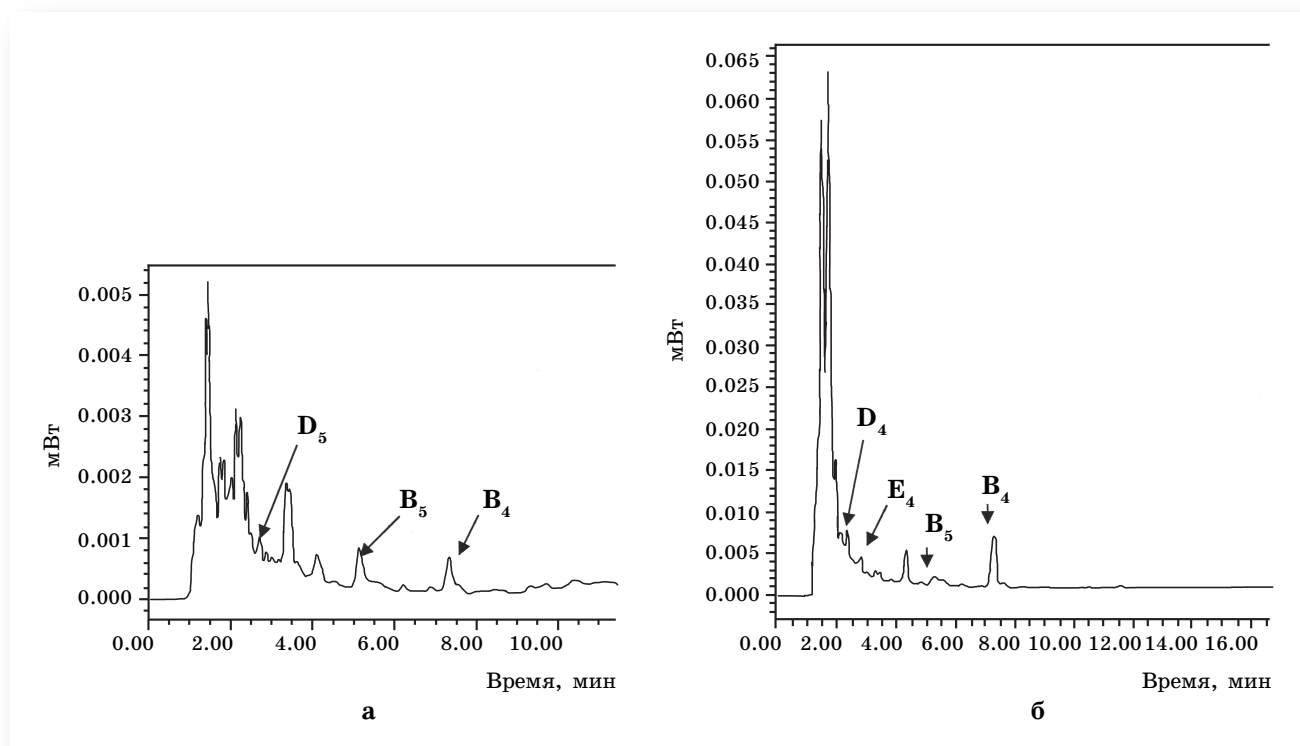


Рис. 2. Хроматограммы ЛТ, высвобождаемых лейкоцитами периферической крови, у здорового ребенка П. (а) и ребенка Р. с тяжелой БА в межприступном периоде (б).

Больные разной степени тяжести БА на момент специального обследования находились в межприступном периоде заболевания, и, по данным ФВД, у большинства пациентов отсутствовали выраженные вентиляционные нарушения. Однако, анализ уровня ЛТ, высвобождаемых из лейкоцитов, выявил в указанных группах больных некоторые отличия. Так, у больных с легкой формой БА, не получавших медикаментозного лечения, образование ЛТВ<sub>4</sub> и ЛТВ<sub>5</sub> было снижено в сравнении с более тяжелыми формами заболевания, и, напротив, отмечалось наиболее высокое среднее суммарное значение сульфидопептидных ЛТ — ЛТС<sub>4</sub>+ЛТД<sub>4</sub>+ЛТЕ<sub>4</sub> (рис. 4). При этом у больных с легкой БА наблюдался максимальный уровень высвобождения ЛТС<sub>4</sub>, который определялся у 12 из 14 обследуемых, причем у половины детей отмечались высокие уровни ЛТС<sub>4</sub> (от 10 до 60 нг). В отличие от больных с легкой БА у пациентов со среднетяжелой БА ЛТС<sub>4</sub> определялся лишь у 12 % обследованных и его количество было сниженным до 0,5—1 нг. В группе больных с тяжелой БА ЛТС<sub>4</sub> был выявлен у 1/5 больных и его количество у большинства составило от 1,5 до 13 нг. Очевидно, наблюдаемые максимальные значения суммарного высвобождения сульфидопептидных ЛТ и ЛТС<sub>4</sub> у детей с легкой БА связаны с тем, что больные этой группы не получали терапии на момент обследования.

ЛТД<sub>4</sub> и ЛТЕ<sub>4</sub> у детей с легкой и среднетяжелой БА определялись редко и в низкой концентрации. В группе тяжелых больных ЛТД<sub>4</sub> также выявлялся лишь у 3 из 32 больных, причем уровень этого меди-

атора достоверно не отличался от такового у больных со среднетяжелой БА. В то же время ЛТЕ<sub>4</sub> определялся у половины обследованных больных с тяжелой БА. При этом его количество составило более 10 нг у 9 из 16 детей, в сравнении с группой среднетяжелых больных, у которых уровень ЛТЕ<sub>4</sub>, равный 10 нг, выявлен лишь у одного из 6 пациентов (рис. 5). В связи с этим следует указать, что ЛТЕ<sub>4</sub> образуется из короткоживущего ЛТД<sub>4</sub> и обладает самым низким, но наиболее продолжительным бронхоспастическим действием в ряду пептидосодержащих ЛТ. Его основная патогенетическая функция при аллергических заболеваниях — формирование неспецифической гиперреактивности [7, 8].

В связи с этим можно предположить, что высокий уровень ЛТЕ<sub>4</sub> у больных с тяжелой БА отражает конституциональные особенности метаболизма ЛТ, в силу которых у этих больных сохраняется высокий уровень секреции ЛТЕ<sub>4</sub> (несмотря на интенсивную терапию), что, вероятно, и поддерживает длительную бронхоконстрикцию у этих детей.

Таким образом, у больных с тяжелой БА наблюдается снижение количества ЛТС<sub>4</sub> и ЛТД<sub>4</sub> и увеличение количества ЛТЕ<sub>4</sub> в сравнении с более легкими формами заболевания, что, возможно, связано с базисной терапией ИКС. В пользу этого предположения говорят данные о том, что терапия ИКС подавляет активность фосфолипазы А<sub>2</sub> [33] и ускоряет катаболизм ЛТС<sub>4</sub> до менее активных ЛТД<sub>4</sub> и ЛТЕ<sub>4</sub>, стимулируя активность ЛТС<sub>4</sub>-γ-глутамилтранспептидазы [34—36].



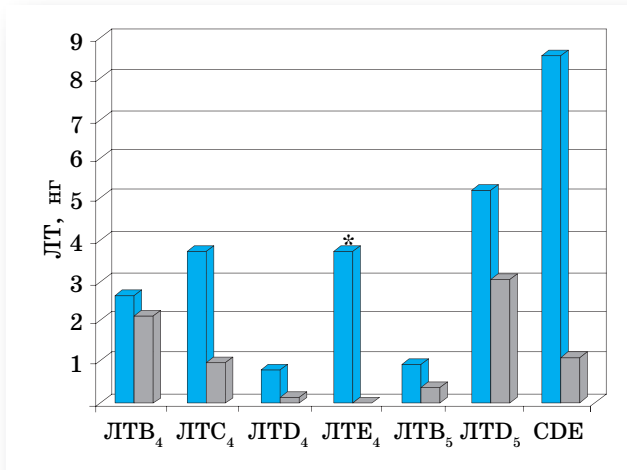


Рис. 3. Уровень ЛТ у здоровых детей и больных БА.  
\*  $p=0,018$ ; 1-й столбик — больные БА, 2-й столбик — здоровые дети.

Представляет интерес сопоставление полученных нами данных с ранее проведенными наблюдениями [18] за уровнем высвобождения ЛТ 4-й серии у детей с БА, не получавших современной базисной терапии, которым назначались лишь бронхолитики. У этих детей был выявлен высокий уровень ЛТС<sub>4</sub> на фоне небольшого увеличения высвобождения ЛТD<sub>4</sub> и ЛТЕ<sub>4</sub>. Эти данные согласуются с результатами, полученными нами при обследовании детей, страдающих легкой БА и не получающих базисной терапии в отличие от больных со среднетяжелой и тяжелой БА, у которых, напротив, наблюдается резкое снижение ЛТС<sub>4</sub> и повышение уровня ЛТЕ<sub>4</sub>, в особенности у больных с тяжелой БА. Как уже было указано, данный факт может быть обусловлен способностью современных лекарственных препаратов ускорять превращение наиболее мощного бронхоконстриктора ЛТС<sub>4</sub> в менее активную форму ЛТЕ<sub>4</sub>. Однако наличие у ЛТЕ<sub>4</sub> длительного бронхоконстрикторного эффекта служит, очевидно, одним из факторов пролонгации патологического процесса в легких. Эти данные указывают на необходимость дальнейшего поиска фармакотерапевтических и, возможно, диетологических подходов к нормализации обмена ЛТ и элиминации не только ЛТС<sub>4</sub>, но и ЛТЕ<sub>4</sub>, способствуя тем самым уменьшению аллергического воспаления и снижению уровня сенсибилизации.

Переходя к характеристике ЛТ 5-й серии и их соотношения с ЛТ 4-й серии, следует указать, что ЛТD<sub>5</sub> выявлялся у всех обследованных здоровых детей, а также у большинства детей с легкой БА (у 13 из 14 больных), среднетяжелой БА (у 14 из 17 больных) и тяжелой БА (у 24 из 32 больных). При этом уровень ЛТD<sub>5</sub> был выше, чем уровень ЛТD<sub>4</sub> у всех обследованных детей как здоровых, так и больных БА (рис. 6). Достоверных отличий в уровне высвобождения ЛТD<sub>5</sub> в зависимости от тяжести заболевания выявлено не было. Тот факт, что у здоровых детей отсутствуют проявления бронхоспазма,

а уровень ЛТD<sub>5</sub> выше уровня ЛТD<sub>4</sub>, обладающего максимальным бронхоконстрикторным действием, определяемым чаще в период обострения [18], позволяет нам не согласиться с данными RS. Charpin et al. [19], сообщавших, что ЛТD<sub>4</sub> и ЛТD<sub>5</sub> обладают равной биологической активностью. Полученные нами результаты указывают на меньшую бронхоконстрикторную активность ЛТD<sub>5</sub> в сравнении с ЛТD<sub>4</sub>, что согласуется с представлениями о целесообразности переключения метаболизма ЛТ у больных БА в сторону образования ЛТ 5-й серии путем обогащения рациона больных  $\omega$ -3 ПНЖК в качестве патогенетически обоснованного подхода к лечению БА [37—39].

При анализе соотношений ЛТ 4-й и 5-й серий подтипа В установлено, что ЛТВ<sub>4</sub> выявлялся у всех здоровых детей (в концентрации от 0,5 до 3,4 нг), ЛТВ<sub>5</sub> — у 6 из 8 детей (в концентрации 0,2—0,8 нг). У детей с легкой БА изолированно ЛТВ<sub>4</sub> определялся у 7 из 14 больных, а в сочетании с ЛТВ<sub>5</sub> — у 6 из 14 детей.

Следует подчеркнуть, что хотя ЛТВ<sub>5</sub> выявлялся у большего числа детей, уровень высвобождения ЛТВ<sub>4</sub> все-таки преобладал над уровнем ЛТВ<sub>5</sub> во всех обследуемых группах (рис. 7). Достоверных отличий в уровне высвобождения ЛТВ<sub>5</sub> в зависимости от тяжести заболевания выявлено не было. Учитывая известные данные литературы о существующих различиях в степени реализации ЛТВ<sub>4</sub> и ЛТВ<sub>5</sub> хемотаксических свойств, представляло интерес изучить соотношения между ЛТ этих двух классов у здоровых и больных БА детей.

Выявлено уменьшение соотношения ЛТВ<sub>4</sub>/ЛТВ<sub>5</sub> с 6:1 у здоровых детей и больных с легкой БА до 3,5:1 и 2:1 у пациентов со среднетяжелой и тяжелой БА.

При обсуждении возможных механизмов этого явления, полученные данные целесообразно рассматривать в комплексе с представленными выше результатами высвобождения из лейкоцитов других классов ЛТ. В частности, как было отмечено, у больных

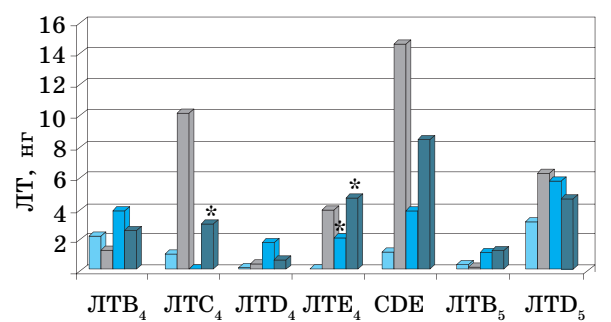


Рис. 4. Уровень ЛТ у здоровых детей и больных БА различной степени тяжести.  
1-й столбик — здоровые дети, 2-й столбик — легкая БА, 3-й столбик — среднетяжелая БА, 4-й столбик — тяжелая БА, \*  $p<0,05$  при сравнении со здоровыми детьми.

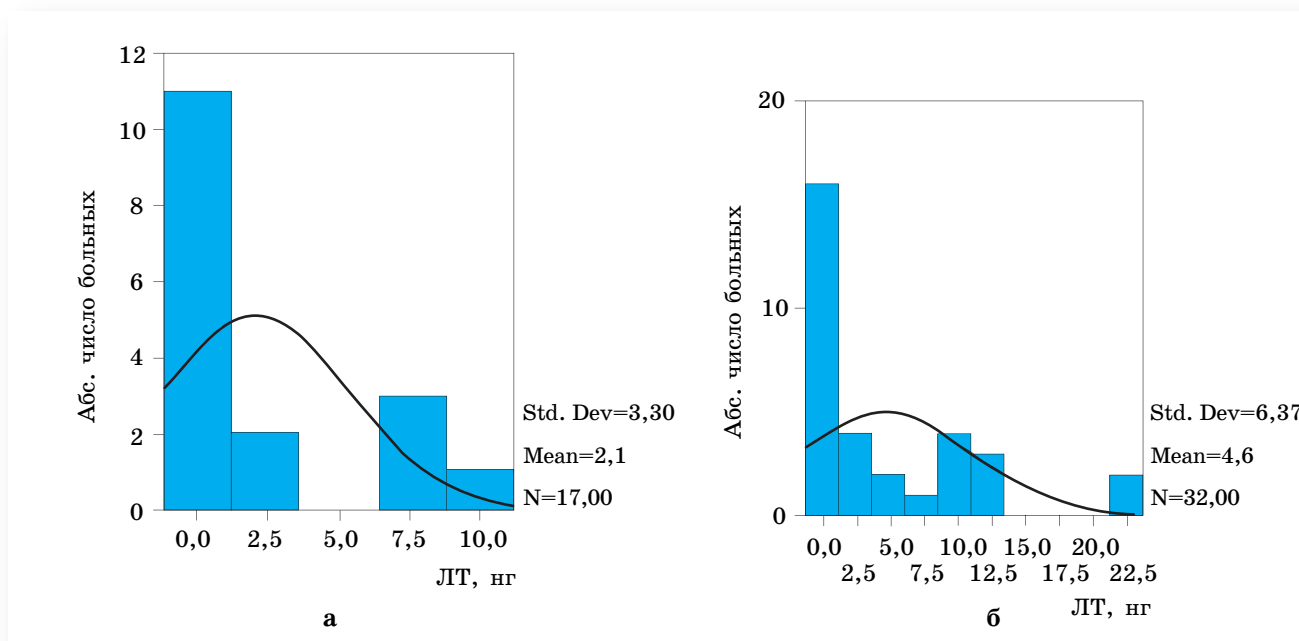


Рис 5. Гистограмма уровней ЛТЕ<sub>4</sub> у больных БА средней тяжести (а) и тяжелой БА (б).

БА был повышен уровень сульфидопептидных ЛТС<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>. В связи с этим можно полагать, что выявленное снижение уровня ЛТВ<sub>4</sub> у больных БА обусловлено сдвигом метаболизма их общих предшественников (арахидоновой кислоты и ЛТА<sub>4</sub>) в сторону образования сульфидопептидных ЛТ. Следует, однако, отметить, что несмотря на некоторое снижение уровня ЛТВ<sub>4</sub>, он может играть роль в развитии поздней фазы аллергической реакции вследствие его более высокого сродства к высокоаффинным рецепторам (в 500 раз выше в сравнении с ЛТВ<sub>5</sub> [40]). Что касается относительно более высокого уровня ЛТВ<sub>4</sub> (в сравнении с ЛТВ<sub>5</sub>) у здоровых детей, то можно полагать, что это соотношение, вероятно, отражает преобладание ω-6 над ω-3 ПНЖК в современном пи-

щевом рационе (20—25 : 1 [23]) и в организме здоровых детей (22 : 1 [41]). Для подтверждения справедливости данного предположения представляется важным в дальнейшем изучение жирнокислотного состава мембран лейкоцитов.

### Заключение

Таким образом, проведенные исследования позволили впервые изучить в сопоставимых условиях соотношение ЛТ у детей с БА и выявить существенные сдвиги в высвобождении различных ЛТ у детей с БА в сравнении со здоровыми детьми. При этом были отмечены существенные изменения в уровнях ЛТ при различной степени тяжести заболевания, в частности, повышение сульфидопептидных ЛТ — во

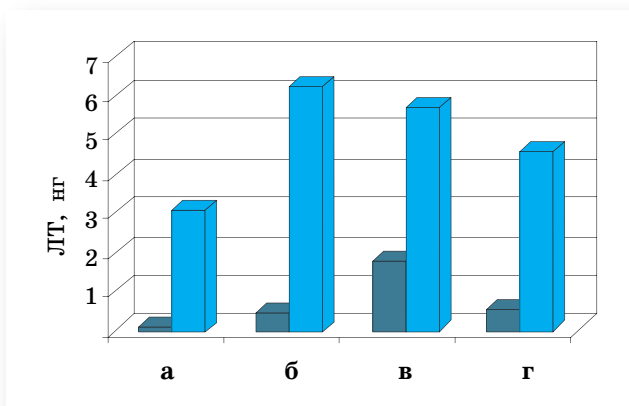


Рис. 6. Уровень ЛТД<sub>4</sub> и ЛТД<sub>5</sub> у больных БА различной степени тяжести. 1-й столбик — ЛТД<sub>4</sub>, 2-й столбик — ЛТД<sub>5</sub>; здесь и на рис. 7: а — здоровые дети, б — легкая БА, в — среднетяжелая БА, г — тяжелая БА.

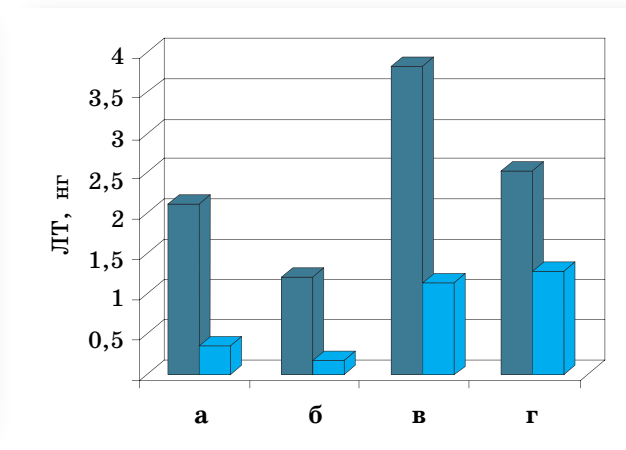


Рис. 7. Уровень ЛТВ<sub>4</sub> и ЛТВ<sub>5</sub> у больных БА различной степени тяжести.

всех группах детей с БА, в особенности, ЛТС<sub>4</sub> — у больных с легкой БА и ЛТЕ<sub>4</sub> — у больных с тяжелой БА.

По-видимому, полученные результаты отражают как сдвиги в образовании ЛТ и их метаболизме при БА, так и особенности лечебного действия двух групп современных препаратов — кромогликатов и ИКС. Выявленные нами изменения высвобождения

из лейкоцитов периферической крови различных классов ЛТ при БА могут стать патогенетическим обоснованием для поиска путей совершенствования фармако- и диетотерапии БА, направленных на эффективную нормализацию иммунных и метаболических нарушений в организме больных детей.

#### ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatrjournal.ru> № 5/2006, приложение № 8.

© Коллектив авторов, 2006

*В.К. Котлуков<sup>1)</sup>, В.А. Бычков<sup>2)</sup>, Л.Г. Кузьменко<sup>2)</sup>, Б.М. Блохин<sup>1)</sup>*

### УПОРНО РЕЦИДИВИРУЮЩАЯ ОБСТРУКЦИЯ БРОНХОВ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА БЕЗ АТОПИИ

<sup>1)</sup> РГМУ, <sup>2)</sup> РУДН, Москва

Под наблюдением находились 74 ребенка в возрасте от 1 года до 3 лет с упорно рецидивирующей обструкцией бронхов, возникавшей на фоне частых острых респираторных инфекций (ОРИ). Клинико-анамнестических признаков атопии у больных не наблюдалось. Традиционная консервативная терапия была малоэффективной. Пациенты направлялись на госпитализацию с диагнозом рецидивирующий обструктивный бронхит и бронхиальная астма (БА). Клинически больные расценивались как часто болеющие дети. Проводили комплексное обследование с изучением показателей клеточного и гуморального иммунитета, активности фагоцитоза, интерфероногенеза, аллергологического статуса. Определяли показания для дополнительного бронхологического исследования с проведением трахеобронхоскопии (ТБС) и комплексного анализа бронхиального содержимого (БС). Проведенные исследования показали у наблюдавшихся больных отсутствие лабораторных признаков атопии, наличие иммунных нарушений, выраженных инфекционно-воспалительных изменений слизистой оболочки бронхов (катарально-гнойного и гнойного эндобронхита) с существенными нарушениями протеиназно-ингибиторного потенциала БС. ТБС выявила наличие инородных тел в бронхах с длительными сроками аспирации (при отсутствии указаний в анамнезе на возможность аспирации) (36,5%), различных аномалий развития бронхиального дерева (28,4%) и эндобронхита без других находок (35,1%). Комплексное обследование позволило исключить диагноз БА. Показана диагностическая значимость ТБС у больных с упорно рецидивирующим течением обструкции бронхов на фоне частых ОРВИ и при отсутствии эффекта от традиционной консервативной терапии.

Authors observed 74 children aged 1—3 years old with frequently relapsed bronchial obstruction associated with acute respiratory infection (ARI). History and clinical signs of atopy were absent in all cases. Standard conservative therapy showed low efficacy. Patients were admitted in hospital with diagnosis of recurrent obstructive bronchitis or bronchial asthma (BA). Clinically these patients were estimated as children with frequent acute respiratory infections. Complex examination included determination of cellular and humoral immunity parameters, phagocytosis activity, intreferonogenesis, allergologic state. Authors determined indications for additional bronchologic examination including tracheobronchoscopy (TBS) and complex analysis of bronchial secretion (BS). Examination showed absence of atopy laboratory signs in examined patients, presence of immune disorders, significant infectious inflammatory changes of bronchial mucosa (catarrhal and purulent endobronchitis) with significant disorders of BS proteinase inhibitory potential. TBS showed presence of foreign bodies in bronchi with long term of aspiration in 36,5% of cases (though history data about possibility of aspiration were absent); different malformations of bronchial tree in 28,4% of cases and endobronchitis without other changes in 35,1% of cases. Complex examination permitted to exclude BA. Authors showed high diagnostic meaning of TBS in cases of frequently relapsed bronchial obstruction associated with frequent ARI and in absence of routine therapy efficacy.



ЛИТЕРАТУРА

1. Бронхиальная астма у детей. / Под ред. С.Ю. Каганова. — М., 1999. — 368 с.
2. Бронхиальная астма. / Под ред. А.Г. Чучалина. — Т. 1. — М., 1997. — 432 с.
3. Drazen J.M., Austen K.F. // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1987. — Vol. 136. — P. 985 — 998.
4. Dahlen S.E., Hedqvist P., Hammarstrom S. et al. // *Nature.* — 1980.— Vol. 288.— P. 484— 486.
5. Wenzel S.E., Larsen G.L., Johnston K. et al. // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1990. — Vol. 142. — P. 112 — 119.
6. Larsen G.L. // *Hosp. Pract. (Off Ed).* — 1987. — Vol. 22. — P. 155 — 159, 163, 167 — 169.
7. O'Hickey S., Hawksworth R., Fong C. et al. // *Am. Rev. Respir. Dis.* — 1991.— Vol. 144.— P. 1053 — 1057.
8. Arm J., Lee T. // *Advances in prostaglandin, Thromboxane and leukotriene research.* — Vol. 22. — New York, 1994. — P. 227 — 240.
9. Mita H., Yui Y., Yasueda H. et al. // *Prostaglandins.* — 1986. — Vol. 31, № 5. — P. 869 — 886.
10. Fank C.D. // *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* — 1993. — Vol. 45.— P. 67— 98.
11. Sampson A.P., Evans J.M., Garland L.G. et al. // *Pulm. Pharmacol.* — 1990.— Vol. 3, № 3. — P. 111 — 119.
12. Henderson W.R. // *Ann. Allergy.* — 1994. — Vol. 72. — P. 272 — 278.
13. O'Byrne P.M. // *Chest.* — 1997. — Vol. 111, № 2. — Suppl. — P. 27— 34.
14. McMillan R.M. // *Paediatr. Respir. Rev.* — 2001.— Vol. 2, № 3. — P. 238 — 244.
15. Sampson A.P., Thomas R.U., Costello J.F. et al. // *Br. J. Clin. Pharmacol.*— 1992.— Vol. 33. — P. 423—430.
16. Shindo K., Matsumoto Y., Hirai Y. et al. // *J. Intern. Med.* — 1990. — Vol. 228, № 2. — P. 91—96.
17. Michelle L., Seymour M.L., Rak S. et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 2001.— Vol. 164, № 11. — P. 2051 — 2056.
18. Погомий Н.Н. Диагностическое и прогностическое значение исследования высвобождения лейкотриенов из лейкоцитов периферической крови при atopических и псевдоаллергических заболеваниях у детей и терапевтическая коррекция медиаторных реакций: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — М., 2001.

19. Chapkin R.S., Hubbard N.E., Erickson K.L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1990.— Vol. 171, № 2.— P. 764 — 769.
20. Lee T.H., Mencia-Huerta J.M., Shih C. et al. // *J. Clin. Invest.* —1984 — Vol. 74, № 6—P. 1922—1933.
21. Hammarstrom S. // *J. Biol. Chem.* — 1980.— Vol. 255, № 15.— P. 7093 — 7094.
22. Lee T.H., Sethi T., Crea A.E. // *Clin. Sci. (Colch).* — 1988.— Vol. 74, № 5.— P. 467— 475.
23. Mickleborough T.D., Lindley M.R., Ionescu A.A., Fly A.D. // *Chest.*— 2006.— Vol. 129.— P. 39—49.
24. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». / Под ред. Н.А. Геппе, Ю.Л. Мизерницкого.— М., 2006. — 193 с.
25. Digeon M., Laver J., Riza J., Back J. // *J. Immunol. Methods.* — 1977.— Vol. 16.— P. 165 — 183.
26. Lin A., Morton D., Corman R. // *J. Clin. Invest.*— 1982.— Vol. 70.— P. 1058 — 1064.
27. Bruijnzeel P., Koenderman L., Kok P. et al. // *Pharmacol. Res. Commun.*— 1986.— Vol. 18.— Suppl.— P. 61 — 69.
28. Clancy R., Hugli F. // *Anal. Biochem.*— 1983.— Vol. 133.— P. 30 —39.
29. Peters S., Schulman E., Mark C. et al. // *J. Immunol. Methods.*— 1983.— Vol. 64.— P. 343 —353.
30. Schacky von C., R. Kiefl. // *J. Lab. Clin. Med.*—1993.— Vol. 121.— P. 302 —309.
31. Samuelsson B., Funk C.D. // *J. Biol. Chem.*— 1989.— Vol. 264.— P. 19469 —19472.
32. Dahlen S.E., Hedqvist P., Hammarstrom S. // *Eur. J. Pharmacol.*— 1982.— Vol. 86. № 2.— P. 207—215.
33. Гущин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль.— М., 1998. — 252 с.
34. Zaitse M., Hamasaki Y., Aoki., Miyasaki S.A. // *J. Allergy Clin. Immunol.*— 2001.— Vol. 108, № 1.— P. 122 — 124.
35. Zaitse M., Hamasaki Y., Matsuo M. et al. // *Blood.*— 2000.— Vol. 96, № 2.— P. 601 — 609.
36. Zaitse M., Hamasaki Y., Tsuji K. et al. // *Eur. Respir. J.*— 2003.— Vol. 22.— P. 35 — 42.
37. Arm J.P., Horton C.C., Mencia-Huerta J.M. et al. // *Thorax.*— 1988.— Vol. 43.— P. 84 — 92.
38. Dry J., Vincent D. // *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*— 1991 .— Vol. 95.— P. 156 — 157.
39. Hodge L., Salome C.M., Hughes J.M. // *Eur. Respir. J.*— 1998.— Vol. 11.— P. 361—365.
40. Goldman D.W., Pickett W.C., Goetzel E.J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1983.— Vol. 117, № 1.— P. 282 — 288.
41. Шилина Н.М., Комарова О.Н., Кулакова С.Н. и др. // 10-й Конгресс педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии».— М., 2006.— С. 665 — 674.