

сом на фоне повышенных энергетических затрат), является показателем дезадаптивной реакции организма у больных с тяжелой БА. Вероятно, выраженные изменения маркеров апоптоза, тесно коррелирующие с ОФВ<sub>1</sub>, можно рассматривать в качестве критериев неконтролируемой клеточной гибели.

Таким образом, индукция чрезмерного апоптоза, связанная с активностью воспалительного процесса, ведущая к нарушению структуры и ремоделированию бронхолегочной системы, диктует необходимость разработки современных медицинских технологий, корректирующих выявленные сдвиги.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Покровская Е.А., Каргаполов А.В. // Лаб. дело. — 1972. — № 6. — С. 337—341.
2. Методические указания по применению унифицированных и лабораторных методов исследования. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М., 1997. — С. 65—71.
3. Гущина Л.А., Кудрявцева Г.В., Макаров С.А., Стрижак И.Г. // Лаб. дело. — 1984. — № 4. — С. 223—225.
4. Фланаган Р.Дж., Брейтмуэйт Р.А., Браун С.С. и др. Основы аналитической токсикологии. — ВОЗ, Женева, 1997. — 7 с.
5. Власова А.С. Применение лекарственных веществ на основе крахмально-агарового геля в диагностике заболеваний легких: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Иваново, 1991. — 22 с.
6. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. // Каз. мед. журнал. — 2000. — Т. 81, № 3. — С. 217—222.
7. Мохорт Т.В., Мельнов С.Б., Горанов В.А. // Пробл. эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 8—13.

© Коллектив авторов, 2003

А.В. Богданова, Е.В. Бойцова, Г.Л. Мурыгина, Т.П. Сесь,  
Е.А. Суркова, Б.Г. Лисочкин, М.М. Голобородько

## ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОМ БРОНХИОЛИТЕ У ДЕТЕЙ

НИИ пульмонологии им. акад. И.П. Павлова, Областная детская клиническая больница, Санкт-Петербург

Авторы провели обследование 57 детей 8—15 лет с хроническим бронхиолитом с облитерацией (ХБО) и 30 больных 9—14 лет с тяжелой бронхиальной астмой (БА). Оценивали характер воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при цитологическом исследовании жидкости бронхоальвеолярного лаважа, а также при определении содержания в ней интерлейкинов 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) и 8 (IL8), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), активности эластазы (Э) и  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназ ( $\alpha_1$ ИП). При ХБО выявлены нейтрофильно-лимфоцитарный тип воспаления с увеличением числа эозинофилов и повышение уровня TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8, Э и  $\alpha_1$ ИП. При БА выявлены эозинофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа нейтрофилов и повышение концентрации изученных цитокинов, Э и  $\alpha_1$ ИП, значительно менее выраженное, чем у больных ХБО. Полученные результаты могут быть использованы при проведении дифференциальной диагностики БА и ХБО.

Authors examined 57 children in age 8—15 years old with chronic bronchiolitis with obliteration (CBO) and 30 children in the age 9—14 years old with severe bronchial asthma (BA). They studied character of bronchial mucosa inflammation by cytological examination of bronchial lavage fluid and also by determination of interleukines 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) and 8 (IL8), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), elastase (E) and  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor ( $\alpha_1$ PI) in this fluid. CBO was characterized by neutrophilic and lymphocytic type of inflammation with increased eosinophiles number and increased level of TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , E and  $\alpha_1$ PI. BA was characterized by eosinophilic and lymphocytic type of inflammation with increased neutrophiles number; concentration of studied cytokines and E and  $\alpha_1$ PI activity were increased significantly more than in CBO cases. These results can be used for CBO and BA differential diagnosis.

Хронический бронхиолит с облитерацией (ХБО) и тяжелая бронхиальная астма (БА) рассматриваются как формы хронической обструктивной патологии легких в детском возрасте. При проведении дифференциальной диагностики тяжелых вариантов БА, характеризующейся персистирующим,

плохо контролируемым воспалением в бронхах, и ХБО возникают значительные трудности, что связано не только с определенным клиническим сходством этих заболеваний, но и с недостаточной изученностью особенностей местного воспаления при них.

Известно, что основными морфологическими изменениями, характерными для БА, является структурная перестройка бронхиального дерева, включающая в себя гипертрофию и гиперплазию гладкомышечных клеток и субэпителиальный фиброз (утолщение базальной мембраны). При тяжелой БА, наряду с эозинофилами, в воспалении принимают участие и нейтрофилы [1, 2].

Для ХБО характерны деструктивные и фибропластические процессы, инициированные в детском возрасте преимущественно вирусной инфекцией, результатом которых являются перибронхиальный и перибронхиоллярный склероз, утолщение стенок и сужение просвета мелких дыхательных путей, деструкция альвеолярной ткани с развитием эмфиземы.

Особенности морфологических изменений при БА и ХБО позволяют предположить разный характер воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева, участие различных медиаторов воспаления и степень дисбаланса в системе протеазы/антипротеазы [3].

В настоящей работе представлены результаты оценки характера воспаления в слизистой оболочке бронхиального дерева у больных ХБО и БА при изучении клеточного состава, уровня IL8, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , эластазы (Э) и  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназ ( $\alpha_1$ ИП) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа.

### Материалы и методы исследования

Работа проводилась в 1997—2000 гг. на базе лаборатории детской пульмонологии НИИ пульмонологии им. акад. И.П. Павлова, лаборатории молекулярной пульмонологии и пульмонологического отделения Областной детской клинической больницы Санкт-Петербурга.

Было проведено обследование 57 детей в возрасте от 8 до 15 лет (средний возраст  $10,83 \pm 0,42$  лет) с диагнозом ХБО и 30 детей в возрасте от 9 до 14 лет (средний возраст  $10,42 \pm 0,31$  лет) с тяжелым вариантом течения БА, находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении Областной детской клинической больницы.

Диагноз ХБО предполагался на основании клинико-анамnestических данных и подтверждался при компьютерной томографии легких (сужение просвета и утолщение стенки мелких бронхов; участки вздутия, чередующиеся с участками нормальной легочной ткани; негомогенность вентиляции при экспираторном сканировании) [4].

Материалом для исследования служила жидкость бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ), полученная в процессе фибробронхоскопического исследования, взятая в динамике наблюдения в периоды обострения заболевания и клинической ремиссии. Проводили цитологическое исследование ЖБАЛ, определение уровня IL1 $\beta$ , IL8, TNF $\alpha$ , активности Э и  $\alpha_1$ ИП.

ЖБАЛ центрифугировали в течение 10 мин при 400г при 4°C. Надосадочную жидкость разливали на аликовты и хранили при -20°C до дальнейшего исследования. Содержание провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$ , IL8, TNF $\alpha$  в ЖБАЛ определяли с помощью «сэндвич»-метода ИФА

(Котов А.Ю., 1993) с использованием тест-систем ТОО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Активность Э определяли спектрофотометрическим методом (Meyer K.C. et al., 1991) с использованием синтетического субстрата паннитрофенилового эфира N-бутил-L-аланил-L-аланил-L-аланина в ацетонитриле (BANPE, «Serva», США). Уровень  $\alpha_1$ ИП определяли методом ракетного иммуноэлектрофореза (Аксельсен Н. и соавт., 1977). При контроле исследований ЖБАЛ были использованы ранее полученные данные и данные других исследователей [5—7].

### Результаты

Все дети с ХБО, независимо от фазы течения болезни, имели катаральные изменения слизистой оболочки бронхиального дерева. Гнойный эндобронхит не выявлялся ни в одном случае. Распространенность эндобронхита была двусторонней. Интенсивность воспаления слизистой оболочки бронхов изменялась в зависимости от фазы течения болезни. В период обострения у всех детей определялась двусторонняя слизистая или слизисто-гноевидная гиперсекреция. При БА были характерны изменения слизистой оболочки по типу двустороннего катарального эндобронхита.

Результаты цитологического исследования ЖБАЛ показали, что во всех группах больных ХБО в периоды обострения заболевания и клинической ремиссии наблюдалось значительное повышение общего числа клеток ЖБАЛ по сравнению с показателями здоровых лиц. У больных БА общее число клеток ЖБАЛ было также повышено.

При изучении клеточного состава ЖБАЛ было установлено, что у всех больных ХБО в оба исследуемых периода наблюдалось многократное повышение числа нейтрофилов по сравнению с контрольной группой. Цитологическое исследование ЖБАЛ также показало повышение числа эозинофилов у больных ХБО по сравнению со здоровыми лицами. Наряду с повышением числа нейтрофилов и эозинофилов у большинства больных ХБО на протяжении всего периода наблюдения также отмечалось достоверное повышение числа лимфоцитов в ЖБАЛ по сравнению со здоровыми лицами.

Существенное увеличение в ЖБАЛ у детей с ХБО числа нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов отразилось на количестве альвеолярных макрофагов. Снижение относительного числа альвеолярных макрофагов отмечалось у всех больных этой группы в оба периода заболевания.

При цитологическом исследовании ЖБАЛ детей с БА было установлено, что на протяжении всего периода наблюдения на фоне относительного снижения числа альвеолярных макрофагов наблюдалось повышение числа эозинофилов, лимфоцитов и нейтрофилов, однако число последних было достоверно ниже, чем у больных ХБО (табл. 1).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволили выявить достоверные различия в клеточном составе ЖБАЛ. Для ХБО характерно преимущественно нейтрофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа эозинофилов, а для

Таблица 1

**Клеточный состав ЖБАЛ у больных хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Клеточный состав ЖБАЛ	Хронический бронхиолит		Бронхиальная астма		Контрольная группа
	ремиссия	обострение	ремиссия	обострение	
Нейтрофилы, %	43,7±3,6	53,5±2,9	10,4±0,92	12,2±3,3	2,6±0,4
Эозинофилы, %	4,9±1,8	5,9±2,4	6,2±1,81	6,54±0,552	0,2±0,03
Макрофаги, %	41,1±3,7	30,8±2,7	73,8±3,6	59,4±2,4	92,6±2,0
Лимфоциты, %	10,9±0,8	12,8±1,5	13,4±0,6	17,3±0,53	4,6±0,3

Таблица 2

**Уровни IL8, TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  в ЖБАЛ у детей с хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Цитокины, пкг/мл	Хронический бронхиолит		Бронхиальная астма		Здоровые (n=10)
	обострение (n=60)	ремиссия (n=75)	обострение (n=8)	ремиссия (n=10)	
IL8	1450,9±176,1*	1187,4±159,1*	413,0±67,32*	128,13±30,5*	28,3±3,8
IL1 $\beta$	75,72±13,89	53,11±9,46	61,44±7,96	42,41±7,43	19,4±2,5
TNF $\alpha$	391,81±47,6*	126,12±19,9*	56,52±4,94*	27,54±4,11	22,4±2,9

\* достоверность различия показателей по сравнению со здоровыми детьми.

тяжелой БА — эозинофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа нейтрофилов.

При исследовании IL8, основного хемоаттрактанта нейтрофилов, у детей с ХБО было установлено значительное повышение его концентрации в ЖБАЛ. Исследование ЖБАЛ у детей с БА выявило достоверное повышение концентрации IL8 по сравнению с данными здоровых лиц. Однако эти показатели в 2,5—5 раз были ниже, чем у детей с ХБО. В период ремиссии уровни IL8 в ЖБАЛ снижались, но оставались выше контрольных показателей. Концентрации TNF $\alpha$  в ЖБАЛ детей с ХБО в период обострения заболевания были повышенны по сравнению с контролем. В период относительной клинической ремиссии этот показатель достоверно снижался, однако оставался выше контрольных значений (табл. 2).

Исследование уровня IL1 $\beta$  в ЖБАЛ больных ХБО показало, что его концентрации были повышенны по сравнению с показателями здоровых лиц у всех пациентов. У детей с БА повышенные по сравнению с контрольными показателями уровни TNF $\alpha$  в ЖБАЛ отмечались только в период обострения заболевания и были ниже, чем у больных ХБО. Повышение уровня IL1 $\beta$  в ЖБАЛ у больных БА отмечалось в оба исследуемых периода (табл. 2).

Исследование активности Э в ЖБАЛ у больных ХБО показало повышение по сравнению с контролем как при обострении заболевания, так и в период ремиссии. У больных БА в период обострения также наблюдалось повышение Э в ЖБАЛ по сравнению

с контролем, но достоверно менее выраженное, чем при ХБО. В период клинической ремиссии значения Э практически не отличались от контрольных. При анализе уровня  $\alpha_1$ ИП в ЖБАЛ больных ХБО и БА было выявлено его повышение по сравнению с контролем в обе фазы болезни, однако степень повышения этого показателя при ХБО была достоверно выше, чем при БА.

При использовании коэффициента соотношения активность Э/ $\alpha_1$ ИП было установлено, что у больных ХБО значения этого коэффициента отличались от контроля в 40—60 раз, что свидетельствует о значительном дисбалансе в системе протеаз/антипротеазы, который наиболее выражен в период обострения. При БА также отмечалось некоторое повышение этого показателя в обе фазы болезни, однако уровни повышения были ниже (табл. 3).

### Обсуждение

ХБО у детей характеризуется преимущественно нейтрофильным типом воспаления, при котором важную роль играют провоспалительные цитокины, что проявляется в виде значительного повышения уровней TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8 не только в ЖБАЛ [8, 9]. Столь выраженная миграция нейтрофилов может быть связана не только с действием различных хемотаксических факторов, синтезируемых в бронхолегочной ткани макрофагами, эпителиальными и другими клетками, но и способностью самих нейтрофилов продуцировать IL8, LTB<sub>4</sub> и PAF, кото-

Таблица 3

**Суммарные показатели  $\alpha_1\text{ИП}$ , эластазной активности и коэффициент соотношения «активность эластазы /  $\alpha_1\text{ИП}$ » в ЖБАЛ у детей с хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Показатели	Фаза заболевания	ХБО (n=64)	БА (n=16)	Здоровые (n=10)
$\alpha_1\text{ИП}$ , мкг/мл	Обострение	$4,9 \pm 0,58^{1), 2)}$	$4,11 \pm 0,52^{1)}$	$2,9 \pm 0,4$
	Ремиссия	$7,07 \pm 0,6^{1), 2)}$	$3,81 \pm 0,72^{1)}$	
Активность Э, нмоль/мл · с	Обострение	$7,47 \pm 1,86^{1), 2)}$	$2,4 \pm 0,62^{1)}$	$0,09 \pm 0,02$
	Ремиссия	$8,31 \pm 2,18^{1), 2)}$	$0,4 \pm 0,05^{1)}$	
Активность Э/ $\alpha_1\text{ИП}$	Обострение	$1,9 \pm 0,09^{1), 2)}$	$0,6 \pm 0,01^{1)}$	$0,03 \pm 0,001$
	Ремиссия	$1,1 \pm 0,05^{1), 2)}$	$0,1 \pm 0,005^{1)}$	

Достоверность различия показателей: <sup>1)</sup> при сравнении со здоровыми детьми, <sup>2)</sup> при сравнении у больных ХБО и БА.

рые способствуют дополнительному привлечению нейтрофилов в очаг воспаления [10]. У больных ХБО в ЖБАЛ отмечается значительное повышение уровней IFN $\gamma$ , что свидетельствует о преобладании реакций клеточно-опосредованного иммунитета в очаге воспаления.

У детей с БА преимущественно эозинофильный характер воспаления, увеличение числа нейтрофилов в ЖБАЛ больных БА менее выражено, чем у больных ХБО, причем это не зависит от стадии астматической реакции и не всегда свидетельствует об инфекционной природе воспаления [5, 6]. Содержание провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8 в ЖБАЛ больных БА достоверно ниже, чем при ХБО.

Провоспалительные цитокины TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  играют важную роль не только в инициации острого воспалительного ответа, но и выполняют функцию медиаторов хронического воспаления дыхательных путей. При этом степень важности одного из двух этих факторов в патогенезе ХБО оценить трудно, поскольку оба этих цитокина обладают широким спектром биологической активности и являются синергистами в опосредовании воспалительных реакций как на местном, так и на системном уровне. Кроме того, они участвуют в reparационных и фибропролиферативных процессах в легких, стимулируя пролиферацию фибробластов и продукцию ими простагландинов, некоторых цитокинов, коллагена и ряда протеаз [8].

К числу общих закономерностей хронического воспаления при ХБО у детей относится наличие «деструктивного компонента», в значительной степени обусловленного повышением активности клеток — эффекторов деструкции легочной ткани — нейтрофилов и альвеолярных макрофагов в очаге

воспаления и, как следствие, их протеолитической активности. Нейтрофильная Э, помимо антибактериальной защиты, наряду с протеиназой З и катепсином G, играет важную роль в разрушении ключевых моментов тканевого матрикса, таких как эластин, коллаген III и IV типов, ламинин, фибронектин, протеогликаны, приводя, в конечном счете, к формированию эмфиземы легкого [9, 11].

При ХБО в дистальных отделах респираторного тракта наблюдается значительный дисбаланс в системе протеазы/антипротеазы, который более выражен в fazu обострения. Воспалительный процесс при БА сопровождается относительным дефицитом  $\alpha_1\text{ИП}$  только в период обострения заболевания.

У детей с БА в сыворотке крови и ЖБАЛ наблюдается активация Th2-клеток, о чем свидетельствуют высокие уровни IL4 и низкие показатели IFN $\gamma$ .

Различия в состоянии системы протеазы/антипротеазы, возможно, определяют особенности морфологических изменений при БА и ХБО. Высокая активность протеаз при ХБО соответствует более выраженным деструктивным и фибропластическим процессам в мелких бронхах и легочной паренхиме, результатом которых являются перибронхиальный и перибронхилярный склероз, утолщение стенок и сужение просвета мелких дыхательных путей, деструкция альвеолярной ткани с развитием эмфиземы. При БА дисбаланс в этой системе менее выражен и фибропластические процессы локализуются только в субэпителиальном слое.

Полученные результаты изучения характера воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при БА и ХБО могут быть использованы в спорных случаях при проведении дифференциальной диагностики этих состояний.

## ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatriajournal.ru № 4/2005>, приложение № 1.

сом на фоне повышенных энергетических затрат), является показателем дезадаптивной реакции организма у больных с тяжелой БА. Вероятно, выраженные изменения маркеров апоптоза, тесно коррелирующие с ОФВ<sub>1</sub>, можно рассматривать в качестве критериев неконтролируемой клеточной гибели.

Таким образом, индукция чрезмерного апоптоза, связанная с активностью воспалительного процесса, ведущая к нарушению структуры и ремоделированию бронхолегочной системы, диктует необходимость разработки современных медицинских технологий, корректирующих выявленные сдвиги.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Покровская Е.А., Каргаполов А.В. // Лаб. дело. — 1972. — № 6. — С. 337—341.
2. Методические указания по применению унифицированных и лабораторных методов исследования. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М., 1997. — С. 65—71.
3. Гущина Л.А., Кудрявцева Г.В., Макаров С.А., Стрижак И.Г. // Лаб. дело. — 1984. — № 4. — С. 223—225.
4. Фланаган Р.Дж., Брейтмуэйт Р.А., Браун С.С. и др. Основы аналитической токсикологии. — ВОЗ, Женева, 1997. — 7 с.
5. Власова А.С. Применение лекарственных веществ на основе крахмально-агарового геля в диагностике заболеваний легких: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Иваново, 1991. — 22 с.
6. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. // Каз. мед. журнал. — 2000. — Т. 81, № 3. — С. 217—222.
7. Мохорт Т.В., Мельнов С.Б., Горанов В.А. // Пробл. эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 8—13.

© Коллектив авторов, 2003

А.В. Богданова, Е.В. Бойцова, Г.Л. Мурыгина, Т.П. Сесь,  
Е.А. Суркова, Б.Г. Лисочкин, М.М. Голобородько

## ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОМ БРОНХИОЛИТЕ У ДЕТЕЙ

НИИ пульмонологии им. акад. И.П. Павлова, Областная детская клиническая больница, Санкт-Петербург

Авторы провели обследование 57 детей 8—15 лет с хроническим бронхиолитом с облитерацией (ХБО) и 30 больных 9—14 лет с тяжелой бронхиальной астмой (БА). Оценивали характер воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при цитологическом исследовании жидкости бронхоальвеолярного лаважа, а также при определении содержания в ней интерлейкинов 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) и 8 (IL8), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), активности эластазы (Э) и  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназ ( $\alpha_1$ ИП). При ХБО выявлены нейтрофильно-лимфоцитарный тип воспаления с увеличением числа эозинофилов и повышение уровня TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8, Э и  $\alpha_1$ ИП. При БА выявлены эозинофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа нейтрофилов и повышение концентрации изученных цитокинов, Э и  $\alpha_1$ ИП, значительно менее выраженное, чем у больных ХБО. Полученные результаты могут быть использованы при проведении дифференциальной диагностики БА и ХБО.

Authors examined 57 children in age 8—15 years old with chronic bronchiolitis with obliteration (CBO) and 30 children in the age 9—14 years old with severe bronchial asthma (BA). They studied character of bronchial mucosa inflammation by cytological examination of bronchial lavage fluid and also by determination of interleukines 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ) and 8 (IL8), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), elastase (E) and  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor ( $\alpha_1$ PI) in this fluid. CBO was characterized by neutrophilic and lymphocytic type of inflammation with increased eosinophiles number and increased level of TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , E and  $\alpha_1$ PI. BA was characterized by eosinophilic and lymphocytic type of inflammation with increased neutrophiles number; concentration of studied cytokines and E and  $\alpha_1$ PI activity were increased significantly more than in CBO cases. These results can be used for CBO and BA differential diagnosis.

Хронический бронхиолит с облитерацией (ХБО) и тяжелая бронхиальная астма (БА) рассматриваются как формы хронической обструктивной патологии легких в детском возрасте. При проведении дифференциальной диагностики тяжелых вариантов БА, характеризующейся персистирующим,

плохо контролируемым воспалением в бронхах, и ХБО возникают значительные трудности, что связано не только с определенным клиническим сходством этих заболеваний, но и с недостаточной изученностью особенностей местного воспаления при них.

Известно, что основными морфологическими изменениями, характерными для БА, является структурная перестройка бронхиального дерева, включающая в себя гипертрофию и гиперплазию гладкомышечных клеток и субэпителиальный фиброз (утолщение базальной мембраны). При тяжелой БА, наряду с эозинофилами, в воспалении принимают участие и нейтрофилы [1, 2].

Для ХБО характерны деструктивные и фибропластические процессы, инициированные в детском возрасте преимущественно вирусной инфекцией, результатом которых являются перибронхиальный и перибронхиоллярный склероз, утолщение стенок и сужение просвета мелких дыхательных путей, деструкция альвеолярной ткани с развитием эмфиземы.

Особенности морфологических изменений при БА и ХБО позволяют предположить разный характер воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева, участие различных медиаторов воспаления и степень дисбаланса в системе протеазы/антипротеазы [3].

В настоящей работе представлены результаты оценки характера воспаления в слизистой оболочке бронхиального дерева у больных ХБО и БА при изучении клеточного состава, уровня IL8, IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , эластазы (Э) и  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназ ( $\alpha_1$ ИП) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа.

### Материалы и методы исследования

Работа проводилась в 1997—2000 гг. на базе лаборатории детской пульмонологии НИИ пульмонологии им. акад. И.П. Павлова, лаборатории молекулярной пульмонологии и пульмонологического отделения Областной детской клинической больницы Санкт-Петербурга.

Было проведено обследование 57 детей в возрасте от 8 до 15 лет (средний возраст  $10,83 \pm 0,42$  лет) с диагнозом ХБО и 30 детей в возрасте от 9 до 14 лет (средний возраст  $10,42 \pm 0,31$  лет) с тяжелым вариантом течения БА, находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении Областной детской клинической больницы.

Диагноз ХБО предполагался на основании клинико-анамnestических данных и подтверждался при компьютерной томографии легких (сужение просвета и утолщение стенки мелких бронхов; участки вздутия, чередующиеся с участками нормальной легочной ткани; негомогенность вентиляции при экспираторном сканировании) [4].

Материалом для исследования служила жидкость бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ), полученная в процессе фибробронхоскопического исследования, взятая в динамике наблюдения в периоды обострения заболевания и клинической ремиссии. Проводили цитологическое исследование ЖБАЛ, определение уровня IL1 $\beta$ , IL8, TNF $\alpha$ , активности Э и  $\alpha_1$ ИП.

ЖБАЛ центрифугировали в течение 10 мин при 400г при 4°C. Надосадочную жидкость разливали на аликовты и хранили при -20°C до дальнейшего исследования. Содержание провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$ , IL8, TNF $\alpha$  в ЖБАЛ определяли с помощью «сэндвич»-метода ИФА

(Котов А.Ю., 1993) с использованием тест-систем ТОО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Активность Э определяли спектрофотометрическим методом (Meyer K.C. et al., 1991) с использованием синтетического субстрата паннитрофенилового эфира N-бутил-L-аланил-L-аланил-L-аланина в ацетонитриле (BANPE, «Serva», США). Уровень  $\alpha_1$ ИП определяли методом ракетного иммуноэлектрофореза (Аксельсен Н. и соавт., 1977). При контроле исследований ЖБАЛ были использованы ранее полученные данные и данные других исследователей [5—7].

### Результаты

Все дети с ХБО, независимо от фазы течения болезни, имели катаральные изменения слизистой оболочки бронхиального дерева. Гнойный эндобронхит не выявлялся ни в одном случае. Распространенность эндобронхита была двусторонней. Интенсивность воспаления слизистой оболочки бронхов изменялась в зависимости от фазы течения болезни. В период обострения у всех детей определялась двусторонняя слизистая или слизисто-гноевидная гиперсекреция. При БА были характерны изменения слизистой оболочки по типу двустороннего катарального эндобронхита.

Результаты цитологического исследования ЖБАЛ показали, что во всех группах больных ХБО в периоды обострения заболевания и клинической ремиссии наблюдалось значительное повышение общего числа клеток ЖБАЛ по сравнению с показателями здоровых лиц. У больных БА общее число клеток ЖБАЛ было также повышено.

При изучении клеточного состава ЖБАЛ было установлено, что у всех больных ХБО в оба исследуемых периода наблюдалось многократное повышение числа нейтрофилов по сравнению с контрольной группой. Цитологическое исследование ЖБАЛ также показало повышение числа эозинофилов у больных ХБО по сравнению со здоровыми лицами. Наряду с повышением числа нейтрофилов и эозинофилов у большинства больных ХБО на протяжении всего периода наблюдения также отмечалось достоверное повышение числа лимфоцитов в ЖБАЛ по сравнению со здоровыми лицами.

Существенное увеличение в ЖБАЛ у детей с ХБО числа нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов отразилось на количестве альвеолярных макрофагов. Снижение относительного числа альвеолярных макрофагов отмечалось у всех больных этой группы в оба периода заболевания.

При цитологическом исследовании ЖБАЛ детей с БА было установлено, что на протяжении всего периода наблюдения на фоне относительного снижения числа альвеолярных макрофагов наблюдалось повышение числа эозинофилов, лимфоцитов и нейтрофилов, однако число последних было достоверно ниже, чем у больных ХБО (табл. 1).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволили выявить достоверные различия в клеточном составе ЖБАЛ. Для ХБО характерно преимущественно нейтрофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа эозинофилов, а для

Таблица 1

**Клеточный состав ЖБАЛ у больных хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Клеточный состав ЖБАЛ	Хронический бронхиолит		Бронхиальная астма		Контрольная группа
	ремиссия	обострение	ремиссия	обострение	
Нейтрофилы, %	43,7±3,6	53,5±2,9	10,4±0,92	12,2±3,3	2,6±0,4
Эозинофилы, %	4,9±1,8	5,9±2,4	6,2±1,81	6,54±0,552	0,2±0,03
Макрофаги, %	41,1±3,7	30,8±2,7	73,8±3,6	59,4±2,4	92,6±2,0
Лимфоциты, %	10,9±0,8	12,8±1,5	13,4±0,6	17,3±0,53	4,6±0,3

Таблица 2

**Уровни IL8, TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  в ЖБАЛ у детей с хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Цитокины, пкг/мл	Хронический бронхиолит		Бронхиальная астма		Здоровые (n=10)
	обострение (n=60)	ремиссия (n=75)	обострение (n=8)	ремиссия (n=10)	
IL8	1450,9±176,1*	1187,4±159,1*	413,0±67,32*	128,13±30,5*	28,3±3,8
IL1 $\beta$	75,72±13,89	53,11±9,46	61,44±7,96	42,41±7,43	19,4±2,5
TNF $\alpha$	391,81±47,6*	126,12±19,9*	56,52±4,94*	27,54±4,11	22,4±2,9

\* достоверность различия показателей по сравнению со здоровыми детьми.

тяжелой БА — эозинофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа нейтрофилов.

При исследовании IL8, основного хемоаттрактанта нейтрофилов, у детей с ХБО было установлено значительное повышение его концентрации в ЖБАЛ. Исследование ЖБАЛ у детей с БА выявило достоверное повышение концентрации IL8 по сравнению с данными здоровых лиц. Однако эти показатели в 2,5—5 раз были ниже, чем у детей с ХБО. В период ремиссии уровни IL8 в ЖБАЛ снижались, но оставались выше контрольных показателей. Концентрации TNF $\alpha$  в ЖБАЛ детей с ХБО в период обострения заболевания были повышенны по сравнению с контролем. В период относительной клинической ремиссии этот показатель достоверно снижался, однако оставался выше контрольных значений (табл. 2).

Исследование уровня IL1 $\beta$  в ЖБАЛ больных ХБО показало, что его концентрации были повышенны по сравнению с показателями здоровых лиц у всех пациентов. У детей с БА повышенные по сравнению с контрольными показателями уровни TNF $\alpha$  в ЖБАЛ отмечались только в период обострения заболевания и были ниже, чем у больных ХБО. Повышение уровня IL1 $\beta$  в ЖБАЛ у больных БА отмечалось в оба исследуемых периода (табл. 2).

Исследование активности Э в ЖБАЛ у больных ХБО показало повышение по сравнению с контролем как при обострении заболевания, так и в период ремиссии. У больных БА в период обострения также наблюдалось повышение Э в ЖБАЛ по сравнению

с контролем, но достоверно менее выраженное, чем при ХБО. В период клинической ремиссии значения Э практически не отличались от контрольных. При анализе уровня  $\alpha_1$ ИП в ЖБАЛ больных ХБО и БА было выявлено его повышение по сравнению с контролем в обе фазы болезни, однако степень повышения этого показателя при ХБО была достоверно выше, чем при БА.

При использовании коэффициента соотношения активность Э/ $\alpha_1$ ИП было установлено, что у больных ХБО значения этого коэффициента отличались от контроля в 40—60 раз, что свидетельствует о значительном дисбалансе в системе протеаз/антипротеазы, который наиболее выражен в период обострения. При БА также отмечалось некоторое повышение этого показателя в обе фазы болезни, однако уровни повышения были ниже (табл. 3).

### Обсуждение

ХБО у детей характеризуется преимущественно нейтрофильным типом воспаления, при котором важную роль играют провоспалительные цитокины, что проявляется в виде значительного повышения уровней TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8 не только в ЖБАЛ [8, 9]. Столь выраженная миграция нейтрофилов может быть связана не только с действием различных хемотаксических факторов, синтезируемых в бронхолегочной ткани макрофагами, эпителиальными и другими клетками, но и способностью самих нейтрофилов продуцировать IL8, LTB<sub>4</sub> и PAF, кото-

Таблица 3

**Суммарные показатели  $\alpha_1\text{ИП}$ , эластазной активности и коэффициент соотношения «активность эластазы /  $\alpha_1\text{ИП}$ » в ЖБАЛ у детей с хроническим бронхиолитом и бронхиальной астмой**

Показатели	Фаза заболевания	ХБО (n=64)	БА (n=16)	Здоровые (n=10)
$\alpha_1\text{ИП}$ , мкг/мл	Обострение	4,9±0,58 <sup>1), 2)</sup>	4,11±0,52 <sup>1)</sup>	2,9±0,4
	Ремиссия	7,07±0,6 <sup>1), 2)</sup>	3,81±0,72 <sup>1)</sup>	
Активность Э, нмоль/мл · с	Обострение	7,47±1,86 <sup>1), 2)</sup>	2,4±0,62 <sup>1)</sup>	0,09±0,02
	Ремиссия	8,31±2,18 <sup>1), 2)</sup>	0,4±0,05 <sup>1)</sup>	
Активность Э/ $\alpha_1\text{ИП}$	Обострение	1,9±0,09 <sup>1), 2)</sup>	0,6±0,01 <sup>1)</sup>	0,03±0,001
	Ремиссия	1,1±0,05 <sup>1), 2)</sup>	0,1±0,005 <sup>1)</sup>	

Достоверность различия показателей: <sup>1)</sup> при сравнении со здоровыми детьми, <sup>2)</sup> при сравнении у больных ХБО и БА.

рые способствуют дополнительному привлечению нейтрофилов в очаг воспаления [10]. У больных ХБО в ЖБАЛ отмечается значительное повышение уровней IFN $\gamma$ , что свидетельствует о преобладании реакций клеточно-опосредованного иммунитета в очаге воспаления.

У детей с БА преимущественно эозинофильный характер воспаления, увеличение числа нейтрофилов в ЖБАЛ больных БА менее выражено, чем у больных ХБО, причем это не зависит от стадии астматической реакции и не всегда свидетельствует об инфекционной природе воспаления [5, 6]. Содержание провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8 в ЖБАЛ больных БА достоверно ниже, чем при ХБО.

Провоспалительные цитокины TNF $\alpha$  и IL1 $\beta$  играют важную роль не только в инициации острого воспалительного ответа, но и выполняют функцию медиаторов хронического воспаления дыхательных путей. При этом степень важности одного из двух этих факторов в патогенезе ХБО оценить трудно, поскольку оба этих цитокина обладают широким спектром биологической активности и являются синергистами в опосредовании воспалительных реакций как на местном, так и на системном уровне. Кроме того, они участвуют в reparационных и фибропролиферативных процессах в легких, стимулируя пролиферацию фибробластов и продукцию ими простагландинов, некоторых цитокинов, коллагена и ряда протеаз [8].

К числу общих закономерностей хронического воспаления при ХБО у детей относится наличие «деструктивного компонента», в значительной степени обусловленного повышением активности клеток — эффекторов деструкции легочной ткани — нейтрофилов и альвеолярных макрофагов в очаге

воспаления и, как следствие, их протеолитической активности. Нейтрофильная Э, помимо антибактериальной защиты, наряду с протеиназой З и катепсином G, играет важную роль в разрушении ключевых моментов тканевого матрикса, таких как эластин, коллаген III и IV типов, ламинин, фибронектин, протеогликаны, приводя, в конечном счете, к формированию эмфиземы легкого [9, 11].

При ХБО в дистальных отделах респираторного тракта наблюдается значительный дисбаланс в системе протеазы/антипротеазы, который более выражен в fazu обострения. Воспалительный процесс при БА сопровождается относительным дефицитом  $\alpha_1\text{ИП}$  только в период обострения заболевания.

У детей с БА в сыворотке крови и ЖБАЛ наблюдается активация Th2-клеток, о чем свидетельствуют высокие уровни IL4 и низкие показатели IFN $\gamma$ .

Различия в состоянии системы протеазы/антипротеазы, возможно, определяют особенности морфологических изменений при БА и ХБО. Высокая активность протеаз при ХБО соответствует более выраженным деструктивным и фибропластическим процессам в мелких бронхах и легочной паренхиме, результатом которых являются перибронхиальный и перибронхилярный склероз, утолщение стенок и сужение просвета мелких дыхательных путей, деструкция альвеолярной ткани с развитием эмфиземы. При БА дисбаланс в этой системе менее выражен и фибропластические процессы локализуются только в субэпителиальном слое.

Полученные результаты изучения характера воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при БА и ХБО могут быть использованы в спорных случаях при проведении дифференциальной диагностики этих состояний.

## ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatriajournal.ru № 4/2005>, приложение № 1.

**Богданова А.В.**

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Бронхиальная астма. / Под ред. Г.Б. Федосеева. — Т. 2. — СПб., 1996. — 464 с.
2. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» // РМЖ. — 1998. Т. 6, № 2. — Приложение. — С. 3—48.
3. Немцов В.И., Федосеев Г.Б. // Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия / Под ред. Г.Б. Федосеева. — СПб., 1998. — С. 308—386.
4. Бойцова Е.В. // Вестн. перинат. и пед. — 2001. — № 3. — С. 36—40.
5. Del Prete G. // Allergy. — 1992. — Vol. 47, № 5. — P. 450—455.
6. Donovan C.E., Finn P.W. // Thorax. — 1999. — Vol. 54. — P. 938—946.
7. Hodge S., Hodge G., Holmes M. et al. // Respirology. — 2001. — Vol. 6, № 3. — P. 205—211.
8. Abu-Harb M., Bell F., Finn A. et al. // Eur. Respir. J. — 1999. — Vol. 14. — P. 139—143.
9. Anticevich S.Z., Hughes J.M., Black J.L., Armour C.L. // Eur. J. Pharmacol. — 1995. — Vol. 284. — P. 221—225.
10. Scapini P., Lapinet-Vera J.A., Gasperini S. et al. // Immunol. Rev. — 2000. — Vol. 177. — P. 195—203.
11. Costa J.J., Matossian K., Beil W.J. et al. // J. Clin. Invest. — 1993. — Vol. 91. — P. 2673—2684.