

Lek. Katarzyna Woicka-Kolejwa

Ocena klinicznych i immunologicznych predyktorów remisji astmy wczesnodziecięcej.

STRESZCZENIE

Rozpoznanie astmy u małych dzieci stanowi duży problem kliniczny i wymaga przeprowadzenia szerokiej diagnostyki różnicowej. Obturacyjne zapalenie oskrzeli i świszczący oddech, (wheezy bronchitis i wheezing) określają patologię układu oddechowego u dzieci do 5. roku życia. Astma rozpoczyna się u dzieci wcześnie, a powyższe objawy stanowią jej wczesną manifestację kliniczną.

W postępowaniu diagnostycznym u małych dzieci, u których nie ma możliwości wykonania badań czynnościowych czy oceny nieswoistej nadreaktywności oskrzeli, odwołujemy się do parametrów klinicznych, które są podstawą tworzenia indeksów o różnej czułości i swoistości rozpoznawania astmy.

W powyższym badaniu wykorzystano indeks przewidywania astmy (ang. *Asthma Predictive Index*, API), zaproponowany w 2000 r. przez Castro-Rodriguez, zmodyfikowany przez Guilbert i wsp, który uwzględnia kryterium nadrzędne w postaci epizodów obturacji w czasie oceny dokonanej w 2. lub 3. roku życia (≥ 4 epizody obturacji) oraz kryteria większe i mniejsze. mAPI uwzględnia 3 kryteria większe (astma u rodziców, wyprysk atopowy u dziecka i uczulenie na co najmniej 1 alergen wziewny) i 3 kryteria mniejsze (występowanie obturacji bez infekcji, eozynofilia we krwi $\geq 4\%$ i uczulenie na co najmniej 1 alergen pokarmowy) jako predyktory astmy. Indeks jest dodatni przy spełnieniu kryterium nadrzędnego i jednego z dużych lub dwóch spośród małych kryteriów.

Czynniki wpływające na remisję astmy u dzieci są szeroko dyskutowane. Okres remisji astmy obejmuje pełną kontrolę choroby, w tym brak zaostrzeń w ciągu ostatniego roku, bez potrzeby stosowania jakichkolwiek leków przeciwastmatycznych. Czas trwania remisji jest

różny – trwa od kilku miesięcy nawet do końca życia; wielu badaczy stara się ustalić czynniki wpływające na remisję choroby u danego pacjenta. Do remisji astmy u dzieci dochodzi znacznie częściej niż u dorosłych, według badań nawet u 40–60% dzieci w wieku szkolnym i w okresie dojrzewania.

W przeprowadzonym badaniu została podjęta próba określenia profilu klinicznego i immunologicznego dziecka z rozpoznaną astmą wczesnodziecięcą, u którego wystąpiła remisja choroby w wieku wczesnoszkolnym. Określenie fenotypu astmy, łącznie z oceną: objawów dziennych/nocnych, cech atopii, liczby zaostrzeń i okresów bezobjawowych, w którym istnieje większe prawdopodobieństwo przejścia choroby w stan remisji, ma ogromne znaczenie w podejmowaniu decyzji terapeutycznych. Przedmiotem dyskusji pozostaje znaczenie rodzaju komórek prezentujących antygen jak i limfocytów regulatorowych w osiągnięciu remisji astmy oskrzelowej u dzieci, a wyniki nielicznych badań są sprzeczne.

Celem pracy doktorskiej było wytypowanie klinicznych i immunologicznych predyktorów remisji astmy wczesnodziecięcej. W szczególności oceniony został stan kliniczny, nasilenie procesu zapalnego w drogach oddechowych oraz profil limfocytów regulatorowych i komórek prezentujących antygen u dzieci chorych na astmę, u których wystąpiła remisja objawów choroby w wieku wczesnoszkolnym.

Badanie przeprowadzono pomiędzy grudniem 2014 i grudniem 2017 roku. Było to badanie prospektywne.

Do badania włączono 80 dzieci obojga płci w wieku 6 - 10 lat, u których w wieku poniżej 5. rż rozpoznano astmę wczesnodziecięcą według kryteriów mAPI. Przeprowadzono 3 wizyty.

Przeanalizowana została dokumentacja medyczna dzieci będących pod opieką poradni, u których do 5 rż rozpoznano wczesnodziecięcą astmę oskrzelową na podstawie mAPI.

Dzieci zostały podzielone na dwie grupy:

- Grupę badaną – remisja - dzieci, którym na ostatniej wizycie w poradni alergologicznej odstawiono leczenie astmy z powodu nieobecności objawów klinicznych choroby.
- Grupę porównawczą – astma - dzieci, które pozostają na leczeniu przeciwestmatycznym z powodu objawów astmy.

Na wizytach oceniano objawy kliniczne, przeprowadzono badanie ogólnolekarskie oraz badania: czynności płuc (spirometria spoczynkowa, bodypletyzmiografia) i stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym. Weryfikowano przydział dzieci do grup.

Wszystkim dzieciom pobrano próbkę krwi celem oceny profilu uczuleniowego dziecka (oznaczenie IgE całkowitego oraz IgE swoistych dla wybranych alergenów powietrznych i pokarmowych) a także profilu limfocytów regulatorowych i komórek APC metodą cytometrii przepływową. Oznaczono ekspresję komórek o fenotypach: CD4+/CD25+, PPAR+/11c+, SOCS3, FOXP3+, GARP+, CD25+/ CD71+.

W analizie statystycznej wytypowano kliniczne i immunologiczne predyktory remisji astmy w modelu jednoczynnikowym regresji logistycznej, a następnie zweryfikowano siłę i niezależność predyktorów w modelu wieloczynnikowym. Wykorzystując test Manna-Whitney'a, zestawiono parametry immunologiczne z klinicznie definiowaną remisją astmy.

Istotność statystyczną przyjęto na poziomie $p < 0,05$. Analizy dokonano przy pomocy STATISTICA 13.1 (*StatSoft Polska, Kraków*).

Osiemdziesięciu pacjentów włączono do analizy.

W pierwszym etapie wszystkie dostępne dane kliniczne, jako zmienne niezależne, włączano do modeli jednoczynnikowych regresji logistycznej z remisją astmy jako zmienną zależną.

Wśród kryteriów astmy wczesnodziecięcej, nadwrażliwość na alergeny wziewne, świsty niezwiązane z infekcją, eozynofilia krwi obwodowej, były związane ze zmniejszonym prawdopodobieństwem remisji astmy u dzieci w wieku wczesnoszkolnym. Atopowe

zapalenie skóry, alergia na pokarmy poniżej 5 roku życia, astma u rodziców, jak również urodzeniowa masa ciała i punktacja APGAR nie miały związku z ewolucją objawów klinicznych choroby.

Analizę w modelach jednoczynnikowych uzupełniono o model wieloczynnikowy celem weryfikacji niezależności i siły obserwowanych zależności. Model wieloczynnikowy wykazał, że najsilniejszym i jedynym niezależnym klinicznym predyktorem remisji astmy u dzieci powyżej 5 roku życia, był alergiczny nieżyt nosa, którego obecność zmniejszyła prawdopodobieństwo remisji choroby o 85% (OR=0,15; 95%CI:0,039 to 0,56).

Wykazano odwrotną zależność pomiędzy wystąpieniem remisji choroby u dzieci w wieku wczesnoszkolnym a nadwrażliwością na roztocze kurzu domowego, która również związana była z wyższym stężeniem tlenu azotu w powietrzu wydychanym. Nie wykazano wpływu innych badanych czynników środowiska na remisję astmy, takich jak narażenie na dym tytoniowy, BMI, obecność zwierząt w domu, nadwrażliwość na inne alergeny środowiska, w tym na alergeny pokarmowe i zwierzęce.

Obserwowane niższe wartości stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym u pacjentów z remisją astmy w porównaniu do pacjentów z przetrwałymi objawami choroby do wieku wczesnoszkolnego, były istotnie wyższe niż wartości uznane za normy dla wieku, co wskazuje na toczący się proces zapalny w drogach oddechowych u pacjentów z remisją astmy.

Ekspresja wszystkich parametrów immunologicznych u dzieci z remisją w porównaniu do dzieci z astmą, była porównywalna, co sugeruje, że naturalna remisja klinicznych objawów astmy u dzieci nie jest związana z procesami immunoregulacyjnymi tylko ze stanem klinicznym i nadwrażliwością na alergeny środowiska.

Komórki o fenotypach takich jak: CD25, CD25CD71, PPAR, GARP, Foxp3 były związane z alergicznym nieżytem nosa, nadwrażliwością na roztocze kurzu domowego, jak również z

obecnością niektórych kryteriów API we wczesnym dzieciństwie, takich jak eozynofilia krwi obwodowej i świszczący oddech niezwiązany z infekcją, co sugeruje ich udział w regulacji tolerancji immunologicznej.

Uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego oraz obecność objawów alergicznego nieżyty nosa, a nie remisja objawów astmy u dzieci w wieku wczesnoszkolnym, determinowały ekspresję komórek CD25+CD71+, co świadczy o tym, że naturalna remisja klinicznych objawów astmy u dzieci nie jest związana z procesami immunoregulacyjnymi, tylko ze stanem klinicznym i nadwrażliwością na alergeny środowiska.

SUMMARY

Asthma diagnosing in young children is a major clinical problem and requires extensive differential diagnosis. Bronchitis and wheezing determine respiratory pathology in children up to 5 years of age. Asthma starts early in childhood, and the above symptoms are her early clinical manifestation. In the diagnostic procedure in young children, in whom there is no possibility of performing functional tests, we refer to clinical parameters that are the basis for creating indexes with different sensitivity and specificity of asthma diagnosis.

There is little understanding of the mechanisms by which asthma develops into a persistent disease, or by which symptoms regress. Factors influencing remission of asthma in children are widely discussed. The asthma remission period includes full control of the disease, including no exacerbations over the last year, and no need for anti-asthmatics medications. The duration of remission is various - it lasts for several months, even to the end of life. Many researchers are trying to determine the factors affecting remission. The remission of asthma in children is much more frequent than in adults, according to studies even in 40-60% of school-age children and adolescents.

The current study was designed to investigate the clinical and immunological parameters which may be associated with resolution of asthma symptoms.

Children with continuous asthma and those in whom childhood asthma symptoms had resolved were compared with respect to a number of criteria including: clinical data, API criteria (Asthma Predictive Index), immunoregulatory parameters production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC). The study was conducted between December 2014 and December 2017. It was a prospective study based on 80 asthmatic children, aged 6 – 10, who were diagnosed with bronchial asthma <5 years of age based on mAPI (modified API) criteria (asthma was also confirmed later according to GINA guidelines). Children were registered and followed up in our outpatient

allergy clinic. Patients with other chronic diseases such as congenital or acquired heart and lung disease, rheumatologic diseases and immunodeficiency were excluded from the study.

Three visits were carried out. The medical documentation of children was analyzed. The childhood asthma was defined as positive modified Asthma Predicted Index (mAPI), which requires 4 or more wheezing episodes in the last year, in addition with one out of three major criterion: physician-diagnosed parental asthma, physician-diagnosed child eczema, sensitization ≥ 1 aeroallergen or two out of three minor criterion: wheezing apart from colds, blood eosinophils $\geq 4\%$, sensitization ≥ 1 food allergen. The children were divided into two groups:

- A study group - remission - children who were switched asthma treatment at the last visit to the allergy clinic due to the absence of clinical symptoms of the disease.
- A comparative group - asthma - children who remain on anti-asthmatic therapy for asthma symptoms.

Clinical symptoms were evaluated on the visits, general examinations and tests were performed: lung function (resting spirometry, bodyplethysmography) and nitric oxide concentration in exhaled air. The allocation of children to groups was verified. A blood sample was taken from all children to evaluate the child's allergy profile (determination of total IgE and IgE specific for selected airborne and food allergens) as well as the profile of regulatory lymphocytes and APC cells by flow cytometry. Expression of cells with phenotypes: CD4 + / CD25 +, PPAR + / 11c +, SOCS3, FOXP3 +, GARP +, CD25 + / CD71 + was determined.

Statistical analysis was conducted in three steps. First and second step were followed using logistic regression analysis in univariate followed by multivariate model. Significant ($p < 0,1$) predictors of asthma remission, defined in univariate models were included into the final, multivariate model. During third step immunological parameters were compared

between presence and absence of previously defined clinical predictors of asthma remission. The significance threshold of p-level was set at 0.05. Statistical analysis was performed with the STATISTICA 13.1 (StatSoft Polska, Kraków).

In the first step all available clinical data as independent variables were included into the univariate model of logistic regression analysis together with asthma remission as dependent variable. Presence of mAPI criteria such as inhaled allergy, wheezing apart from colds, increased eosinophil blood count as well as presence of HDM-allergy and allergic rhinitis at present, were associated with reduced prevalence of asthma remission.

In the second step inflammatory/immunoregulatory data (categorized according to lower and upper quartiles) as independent variables were included into the univariate model of logistic regression analysis together with asthma remission as dependent variable. Only FeNO level was associated with asthma remission. Second versus the first quartile of FeNO increased prevalence of asthma remission, but third and fourth were not.

Finally, all statistical predictors were included into the model of multivariate logistic regression analysis. The results showed that only current presence of allergic rhinitis independently decrease the probability of asthma remission (OR=0,15; 95%CI:0,039 to 0,56).

Presence of increased eosinophil blood count in API criteria was associated with lower expression of CD25 positive cells (Table 4). Current presence of HDM-allergy was associated with higher FeNO level and higher expression of CD25CD71 positive cells. Allergic rhinitis was associated with higher expression of PPAR and CD25CD71 positive cells; in the same group of patients lower expression of GARP positive cells was observed.