

# NIVELUL SERIC AL PROTEINEI CATIONICE EOZINOFILICE ÎN RAPORT CU EOZINOFILIA ȘI VALOAREA OXIDUL NITRIC EXHALAT LA COPIII CU ASTM BRONȘIC ATOPIC SENSIBILIZAȚI LA AEROALERGENI

Asist. Univ. Dr. Ana-Maria Moiceanu Șovărel<sup>1,2</sup>,  
Asist. Univ. Dr. Eugenia Buzoianu<sup>1,3</sup>, Dr. Mariana Moiceanu<sup>3</sup>,  
Prof. Dr. Doina Anca Pleșca<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“,  
București

<sup>2</sup>Spitalul Clinic de Urgență „Sf. Pantelimon“, București

<sup>3</sup>Spitalul Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu“, București

## REZUMAT

**Obiectiv.** Evaluarea corelației dintre nivelul seric al proteinei cationice eozinofilice (S-ECP) și prezența eozinofiliei, respectiv nivelul oxidului nitric exhalat (FeNO), la copiii cu astm sensibilizați la aeroalergenii.

**Material și metodă.** Studiu prospectiv care a inclus 63 copii cu astm bronșic sensibilizați la aeroalergenii cu vârsta între 5 și 18 ani, desfășurat în Clinica de Pediatrie a Spitalului Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu“ între aprilie 2016 și iulie 2017.

Inițial, s-au determinat nivelul S-ECP, prezența eozinofiliei și valoarea FeNO. Ulterior, s-a evaluat semnificația statistică a corelațiilor dintre S-ECP și prezența eozinofiliei, respectiv valoarea FeNO.

**Rezultate.** 22 dintre pacienți au avut o valoare normală a S-ECP; dintre aceștia doar 8 prezentau eozinofilie. 41 dintre pacienții testați au avut o valoare crescută a S-ECP; dintre aceștia 28 prezentau eozinofilie. Aplicând funcția statistică Pearson Chi-Square Test pentru a evalua semnificația corelației dintre valoarea crescută a S-ECP și prezența eozinofiliei, am obținut valoarea  $p = 0,0146$  (semnificativă statistic).

15 dintre cei 22 pacienți cu valoare normală a S-ECP aveau concomitent o valoare normală a FeNO, restul de 7 pacienți având FeNO crescut. 17 dintre cei 41 pacienți cu valoare crescută a S-ECP au avut valori normale ale FeNO, restul de 24 înregistrând valori crescute ale FeNO. Funcția statistică Pearson Chi-Square Test aplicată pentru a evalua corelația dintre valoarea S-ECP și nivelul FeNO a furnizat valoarea  $p = 0,0432$  (semnificativă statistic).

**Concluzii.** Nivelul crescut al S-ECP se corelează atât cu prezența eozinofiliei, cât și cu valoarea crescută a FeNO la copiii cu astm sensibilizați la aeroalergenii.

**Cuvinte cheie:** astm alergic, proteina cationică eozinofilică, eozinofile, oxid nitric, copii

## INTRODUCERE

Astmul bronșic reprezintă cea mai frecventă boală cronică în rândul populației pediatrice. Afecțiunea se caracterizează printr-o mare heterogenitate în ceea ce privește fenotipurile clinice, severitatea obstrucției căilor aeriene, gradul de reversibilitate și răspunsul la tratament (1).

Etiologia astmului bronșic este extrem de complexă și presupune interacțiunea dintre mai multe tipuri de factori (8). Dintre aceștia, menționăm factori care țin de individ (factori primari, care sunt

în marea lor majoritate genetici) și factori care țin de mediul înconjurător (8).

Printre factorii individuali se numără factorii genetici (care codifică atopia, hiperreactivitatea bronșică, responsivitatea la tratament, remodelarea bronșică și evoluția bolii), sexul, activitatea fizică și obezitatea (8).

De-a lungul anilor, au fost propuse mai multe clasificări ale fenotipurilor de astm bronșic, pornind de la parametrii clinici și fiziopatologici, factorii declanșatori, tipul inflamației bronșice, caracteristicile temporale ale bolii etc. (1).

Adresa de corespondență:

Prof. Dr. Doina Anca Pleșca, Clinica de Pediatrie, Spitalul Clinic de Copii „Victor Gomoiu“, Bdul. Basarabiei 21, sector 2, București  
E-mail: doinaplesca@yahoo.com

Cea mai frecvent utilizată în practică este clasificarea astmului bronșic în funcție de prezența atopiei: fenotip atopic (alergic) și non atopic.

Fenotipul cel mai frecvent întâlnit la copil este astmul atopic (alergic) fiind regăsit la peste 80% dintre pacienți. Acest fenotip este deseori asociat cu istoric familial de boli alergice, precum: dermatită atopică, rinită alergică, conjunctivită alergică, urticarie etc. (2).

Atopia reprezintă particularitatea genetic determinantă a unor indivizi de a dezvolta răspunsuri imune mediate de imunoglobulinele E (IgE) la alergeni comuni din mediu, asociate cu niveluri crescute de IgE serice, cu răspunsuri antigen-IgE specifice și cu teste cutanate pozitive. Trebuie să menționăm că producția nivelelor bazale de IgE se află sub control genetic (8).

IgE sunt implicate în reacțiile de hipersensibilitate de tip I. Acestea se leagă de un receptor specific de pe mastocite și bazofile. Expunerea unui individ la alergenul pentru care există sensibilizare va determina o sinteză crescută de IgE specifice care va declanșa o cascadă de reacții inflamatorii de tip alergic la nivelul mucoasei bronșice (3).

În anumite cazuri, prezența atopiei este însoțită de manifestări clinice specifice alergice (tuse, dispnee, wheezing, senzație de constricție toracică), precipitate de contactul cu alergenul pentru care există sensibilizare. Alteori, în absența manifestărilor clinice specifice de boală alergică, este necesară documentarea atopiei utilizând teste specifice (3).

Confirmarea sensibilizării alergice necesită investigații precum: testarea cutanată prick sau determinarea IgE specifice în ser. Se consideră că rezultatele testelor cutanate prick și valorile IgE specifice serice se pot corela cu manifestările clinice. Prezența IgE specifice crescute în ser sau testul cutanat prick pozitiv indică faptul că individul a fost expus anterior la un alergen și este sensibilizat, deci prezintă risc de a dezvolta manifestări clinice de tip alergic în momentul expunerii la alergenul la care este sensibilizat (7).

Fenotipul de astm bronșic atopic se însoțește în mod caracteristic de inflamație bronșică de tip eozinofilic. Copiii cu astm și sensibilizare aeroalergenică prezintă frecvent o fracție crescută a oxidului nitric exhalat (FeNO) și uneori eozinofilie (B-Eos) (7,8).

Ambele reprezintă markeri de tip sistemic (B-Eos), respectiv de tip local, bronșic, (FeNO), ai inflamației eozinofilice (6).

Un alt marker al inflamației eozinofilice de tip sistemic este proteina cationică eozinofilică

(S-ECP), care poate fi determinată la copiii alergici cu astm (6).

Proteina cationică eozinofilică (ECP) este un marker specific activat și eliberat de eozinofile. Aceasta mediază eliberarea histaminei din mastocite, mijlocind astfel hiperreactivitatea bronșică a căilor aeriene cu apariția bronhospasmului (4).

Oxidul nitric expirat (FeNO) este cel mai cunoscut marker noninvaziv al inflamației de tip alergic în astm. Valoarea FeNO se corelează cu intensitatea inflamației eozinofilice la nivelul mucoasei bronșice. Dozarea de FeNO își găsește utilitatea în obiectivarea gradului de control al bolii. Cu toate acestea nu este utilizat de rutină în monitorizarea pacienților cu astm bronșic (5,6).

## STUDIUL CLINIC

Obiectivul studiului prospectiv realizat a fost stabilirea corelației dintre:

- nivelul seric al proteinei cationice eozinofilice (S-ECP) ca biomarker al procesului inflamator eozinofilic alergic și prezența eozinofiliei;
- nivelul seric al proteinei cationice eozinofilice (S-ECP) ca biomarker al procesului inflamator eozinofilic alergic și nivelul oxidului nitric exhalat la copiii cu astm alergic sensibilizați la aeroalergeni.

Toți pacienții au fost informați despre studiu, iar aparținătorii acestora au semnat în prealabil Formularul de Consimțământ Informat avizat de Comisia de Etică.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Este un studiu prospectiv care a inclus un număr de 63 de copii cu vârsta cuprinsă între 5 și 18 ani (având o vârstă medie de 14 ani), diagnosticați cu astm bronșic atopic sensibilizați la aeroalergeni. Pacienții au fost evaluați în Clinica de Pediatrie din Spitalul Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu”, în perioada aprilie 2016-iulie 2017.

Criteriile de includere în studiu au fost:

1. vârsta cuprinsă între 5 și 18 ani;
2. diagnostic de astm stabilit pe baza datelor anamnestic-clinice și confirmat cu ajutorul spirometriei prin documentarea unei reversibilități a FEV1 după administrare salbutamol inhalator de cel puțin 12% și/sau cel puțin 200 ml față de valorile inițiale;
3. atopie cu sensibilizare la aeroalergeni dovedită prin evidențierea unor valori crescute ale IgE specifice din panelul respirator pediatric și/sau tes-

tare cutanată prick pozitivă față de cel puțin un aeroalergen (polenuri, acarieni, epitelii de animale, mușcăiuri, insecte).

Criteriile de excludere au fost:

1. pacienții cu astm nonatopic;
2. pacienții cu alte tipuri de sensibilizare (față de alergeni alimentari, medicamentoși);
3. pacienți cu astm bronșic atopic care prezentau comorbidități asociate (boala de reflux gastroesofagian, rinite, sinuzite).

Testele cutanate prick au fost efectuate cu trusă standard europeană tip Stallergenes. S-au citit reacțiile cutanate apărute după 15 minute cu măsurarea diametrului papulei. S-au considerat ca fiind reacții pozitive când papula a avut un diametru  $\geq 3$  mm față de martorul negativ.

Valorile IgE specifice în ser au fost considerate pozitive dacă au depășit nivelul de 0,35 kU/l.

În prima etapă a studiului, pentru fiecare pacient diagnosticat cu astm bronșic atopic și sensibilizare aeroalergenică s-au determinat concomitent valoarea eozinofilelor și nivelul seric al proteinei cationice eozinofilice (S-ECP).

Valoarea eozinofilelor sanguine a fost determinată cu ajutorul hemogramei (valoarea normală a eozinofilelor a fost considerată  $< 400$  celule/mmc).

Pentru măsurarea S-ECP s-a utilizat testul imunoenzimatic ELISA (enzyme-linked immunosor-

bent assay). S-au considerat normale valorile situate  $< 13,3$   $\mu\text{g/l}$ .

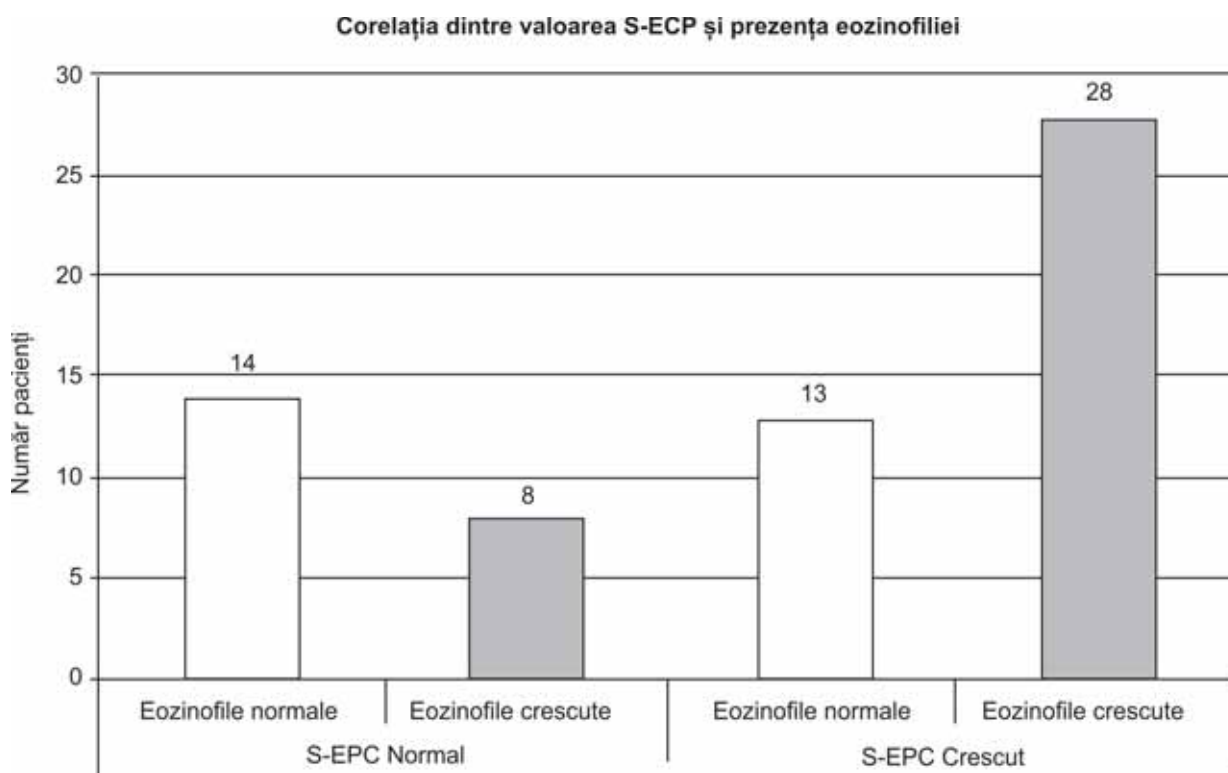
La fiecare pacient inclus în studiu s-a dozat FeNO utilizând dispozitivul NIOX MINO cu piesă bucală un analizor de chemoluminescență aprobat pentru dozarea de NO exhalat. Valorile normale ale FeNO au fost apreciate în funcție de vârstă în conformitate cu ghidul britanic de management al astmului din 2014, astfel:  $< 20$  ppb la pacienții cu vârstă  $< 12$  ani și  $< 25$  ppb la pacienții cu vârstă  $\geq 12$  ani (7).

În final, a fost evaluată corelația dintre valoarea S-ECP și prezența eozinofiliei, precum și corelația dintre valoarea S-ECP și nivelul FeNO.

## REZULTATE

Din cei 63 de pacienți incluși în lotul de studiu, 22 au avut valori normale ale S-ECP; dintre aceștia, 14 au avut un număr normal de eozinofile sanguine, iar 8 au prezentat eozinofilie. 41 dintre pacienții testați au prezentat valori crescute pentru S-ECP. Dintre aceștia, 13 au avut un număr normal de eozinofile sanguine, iar 28 au prezentat eozinofilie.

În Fig. 1 este consemnată corelația dintre nivelul proteinei cationice eozinofilice și valoarea eozinofilelor sanguine.



**FIGURA 1.** Reprezentarea grafică a valorii S-ECP și eozinofile sangvine

Aplicând funcția statistică Pearson Chi-Square Test pentru a evalua semnificația corelației dintre valoarea crescută a S-ECP și prezența eozinofilei, am obținut valoarea  $p = 0,0146$  (semnificativă statistic).

15 dintre cei 22 pacienți cu valoare normală a S-ECP aveau concomitent o valoare normală a FeNO, în timp ce 7 pacienți prezentau valori crescute pentru FeNO, aspect reprezentat grafic în Fig. 2.

17 dintre cei 41 pacienți cu valoare crescută a S-ECP au avut valori normale ale FeNO, restul de 24 înregistrând valori crescute ale FeNO, aspect ilustrat în Fig. 2.

În Fig. 2 este consemnată corelația dintre nivelul proteinei cationice eozinofilice și nivelul oxidului nitric.

Funcția statistică Pearson Chi-Square Test aplicată pentru a evalua corelația dintre valoarea S-ECP și nivelul FeNO a furnizat valoarea  $p = 0,0432$  (semnificativă statistic).

## DISCUȚII

Sensibilizarea specifică aeroalergenică este unul dintre cei mai importanți factori de risc în dezvoltarea simptomelor astmatice.

Exacerbările astmatice la triggeri alergenicici apar la 60-90% dintre copii, iar la adult în proporție de 50%.

Masurarea inflamației eozinofilice, rezultată din activarea răspunsului imun via limfocitele Th2, ajută la diagnosticarea, fenotiparea și monitorizarea bolii pentru sesizarea deteriorării controlului astmatic, identificarea pacienților cu risc de exacerbare și stabilirea atitudinii terapeutice (tratament corticosteroid/biologic).

În practica clinică, biomarkerii inflamației eozinofilice se măsoară cel mai adesea din sânge, aer exhalat și urină. Alte metode de determinare a markerilor inflamației (cum ar cele prin analiza sputei, aspirat/lavaj bronhoalveolar cu ajutorul bronhoscopiei) presupun măsuri invazive sau greu accesibile care pot fi realizate doar în centre de cercetare ultraspecializate.

În ciuda varietății mari de markeri ai inflamației descriși și utilizați în studiile clinice de cercetare la adult, doar un număr mic s-au dovedit utili în monitorizarea astmului. Până în prezent, nu a fost identificat un biomarker optim pentru a măsura inflamația bronșică în astmul atopic.

În ultimii ani, au apărut mai multe publicații privind studiul biomarkerilor inflamației din astmul pediatric, însă cu rezultate controversate. Cercetările

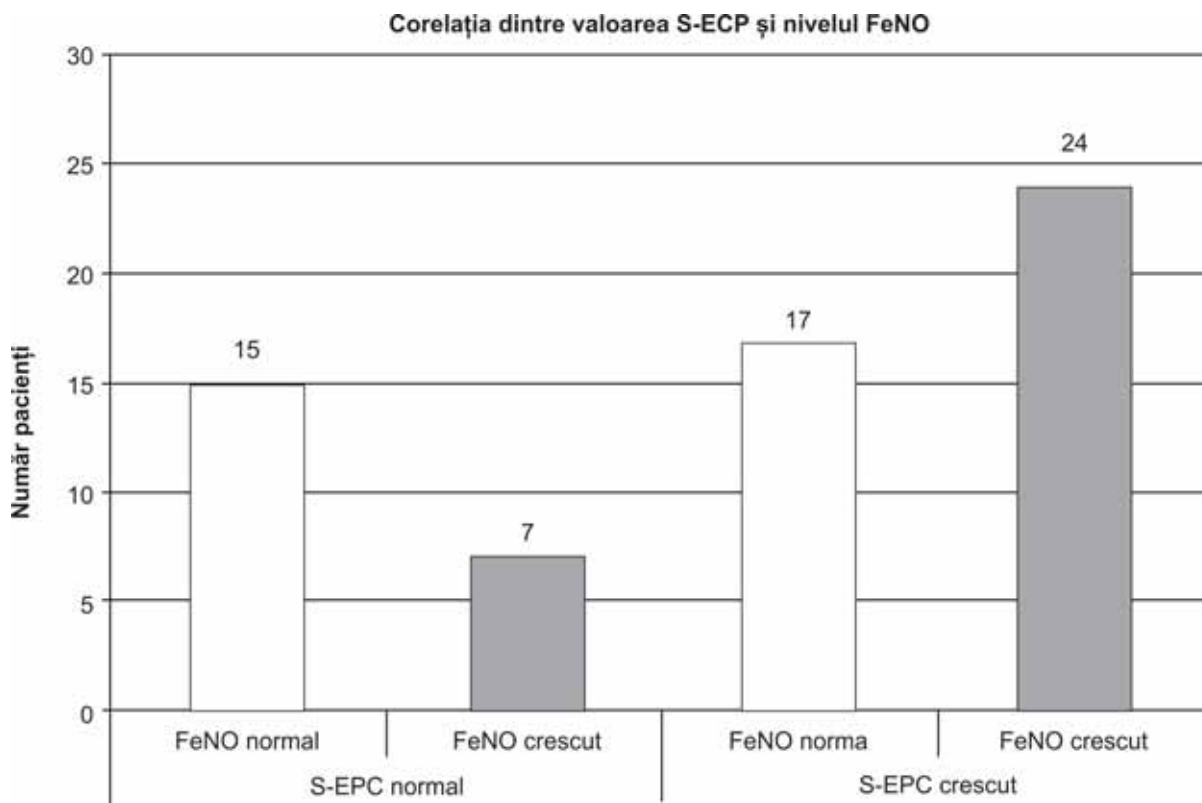


FIGURA 2. Reprezentarea grafică a valorii S-ECP și nivelul FeNO

actuale urmăresc să identifice un marker al fenotipurilor cu risc înalt de a dezvolta astm persistent sever la copii.

Uneori, măsurarea izolată a inflamației eozinofilice este insuficientă și numai evaluarea combinată a acestor markeri, coroborate cu istoricul personal și funcția pulmonară ajută la diagnosticarea, fenotiparea și monitorizarea adecvată a astmului la copil.

## CONCLUZII

Studiul de față a analizat dacă există o corelație între markerii inflamației eozinofilice determinați în sânge și aerul exhalat, respectiv nivelul S-ECP, prezența eozinofiliei și valoarea FeNO.

Rezultatele studiului prospectiv au relevat următoarele:

1. Nivelul S-ECP se corelează cu prezența eozinofiliei la copiii cu astm bronșic atopic sensibilizați la aeroalergeni.

2. Nivelul S-ECP se corelează cu valoarea FeNO la copiii cu astm bronșic atopic sensibilizați la aeroalergeni.

Testarea statusului inflamator prin aplicarea unor metode care să reflecte cât mai fidel procesul inflamator bronșic are implicații practice în monitorizarea adecvată a evoluției bolii sub tratamentul aplicat, precum și în prevenirea acutizărilor astmatice.