

UDC: 616.235-002-053.3:577.122
DOI: 10.24061/2413-4260.XII.2.44.2022.6

ЗНАЧЕННЯ БІЛКА СС16 ПРИ БРОНХІОЛІТІ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

Н.І. Токарчук, А.А. Оверчук

Вінницький національний медичний університет
імені М. І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

Резюме

Вступ. Білок СС16 секретується Сlub клітинами епітелію бронхіол, підтримує гомеостаз епітелію дихальних шляхів і має протизапальну дію в легенях. Важливим є вивчення рівня білка СС16 в сироватці крові з метою розуміння цілісності бронхіального епітелію та розвитку бронхіальною дисфункції саме у дітей раннього віку, хворих на бронхіоліт.

Мета дослідження. Провести аналіз рівня білка СС16 у сироватці крові дітей раннього віку, хворих на бронхіоліт.

Матеріал і методи дослідження. Проведене клінічне обстеження 70 дітей раннього віку. Основну групу склали 35 дітей із бронхіолітом без обтяженого алергологічного анамнезу. Групу порівняння становили 25 дітей, хворих на бронхіоліт, які мали обтяжений алергологічний анамнез. До контрольної групи було включено 10 умовно здорових дітей. Середній вік дітей основної групи становив $8,4 \pm 1,6$ міс, групи порівняння – $6,2 \pm 1,4$ міс та дітей контрольної групи $6,4 \pm 1,2$ міс. До комплексу клініко-лабораторного обстеження дітей входило визначення рівня білка СС16 в сироватці крові. Вміст СС16 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором "Human СС16 ELISA Kit".

Результати дослідження. Встановлено, що рівень білка СС16 у сироватці крові був підвищений у більшості дітей основної групи (22 ($62,8 \pm 6,4$ %) обстежених)). Тоді як у групі порівняння нами не було виявлено підвищення рівня білка СС16 у жодному випадку. Натомість, у 13 ($51,8 \pm 14,4$ %) дітей хворих на бронхіоліт із обтяженим алергологічним анамнезом спостерігалось зниження рівня білка СС16, що ймовірно може бути порушенням ендотеліальної дисфункції, ($p=0,01$).

У ході дослідження нами також виявлено, що у дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного анамнезу середнє значення білка СС16 ($38,9 \pm 4,5$ нг/мл) було достовірно вищим, ніж у дітей, хворих на бронхіоліт із обтяженим алергологічним анамнезом, ($22,9 \pm 3,3$ нг/мл), ($OR=1,667$; $0,854 - 3,250$ 95% CI; $p<0,05$). Разом з тим, у дітей групи порівняння середній рівень білка СС16 в сироватці крові був достовірно вищим, ніж у дітей контрольної групи ($14,2 \pm 2,12$ нг/мл), ($p<0,05$).

Висновки. У дітей раннього віку підвищений рівень білка СС16 може розглядатися як маркер ураження дихальних шляхів при бронхіоліті. У дітей хворих на бронхіоліт, які мали обтяжений алергологічний анамнез, рівень білка СС16 в сироватці крові був достовірно нижчим у порівнянні із показником дітей без обтяженого алергологічного анамнезу.

Ключові слова: бронхіоліт; діти раннього віку; білок СС16.

Вступ

Бронхіоліт є однією із найчастіших форм ураження дихальних шляхів у дітей раннього віку. Клінічні спостереження показали, що бронхіоліт залишається провідним чинником госпіталізації, обумовленого тяжкістю перебігу захворювання у дітей раннього віку [1].

Відомо, що найбільш частою причиною тяжких випадків бронхіоліту в перші роки життя дитини є респіраторно-синцитіальний вірус (RSV) [2]. Разом з тим, продовжує активно вивчатися причинно-наслідковий зв'язок патофізіологічних змін бронхіального дерева при бронхіоліті. Токсичні речовини, які виділяються вірусами та бактеріями, мають високу тропність до війчастих клітин та Сclub- клітин. Віруси, пошкоджуючи епітелій у пізній фазі запалення, провокують виділення широкого спектра медіаторів запалення: гістаміну, брадикініну, лейкотрієнів, факторів активації тромбоцитів, активацію ендотелію бронхів, які призводять до підвищення судинної проникності і набряку слизової оболонки. Вивільнення еластаз з пошкоджених клітин призводить до деструкції епітелію, клітинної проліферації і лімфоїдної інфільтрації та пошкодженню матриксу сполучної тканини у вигляді розростання інтерстицію [3]. Запалення, у свою чергу, сприяє також збільшенню в'язкості бронхіального секрету, обтурації

бронхіол і дрібних бронхів з розвитком паралічу цилиарного апарату, пригніченням фагоцитарної активності альвеолярних макрофагів, наслідком чого є порушення респіраторно-вентиляційної функції легень [4].

Протягом останніх років зростає і усвідомлення того, що патогенез бронхіоліту не може вважатись остаточно з'ясованим. Генез бронхіоліту залежить від взаємодії імунних механізмів, а саме порушення мукоциліарного кліренсу, дефектів системного та місцевого імунітету, макрофагальної системи, інфекційних факторів, а також зв'язок із алергологічним анамнезом [5].

Білок СС16 секретується Сclub клітинами епітелію бронхіол та являється специфічним їх маркером. Білок СС16 є найбільш поширеним у нормальних секретах дихальних шляхів. Відомо, що білок СС16 підтримує гомеостаз епітелію дихальних шляхів і має протизапальну дію в легенях, які піддаються впливу алергенів, вірусів [6].

Порушення регуляції білка СС16 та його дефіцит сприяє підвищеній сприйнятливості легень до вірусних інфекцій та окисного стресу, які часто спостерігаються у патогенезі захворювань органів дихання, таких як ГРВІ, обструктивні захворювання, бронхіальна астма. Згідно сучасних наукових досліджень відомо, що функціонально білок СС16 забезпечує протизапальну та антиок-

сидантну дію в різних клітинах, включаючи епітеліальні клітини та лейкоцити [7]. Протизапальна активність білка CC16 полягає в його здатності інгібувати каталітичну активність секреторної фосфоліпази А 2 (sPLA 2), потужного прозапального ферменту, шляхом зв'язування з кофакторами, необхідними для повної каталітичної активності цього ферменту [8].

Визначення рівня білка CC16 дає можливість оцінити ступінь пошкодження Club клітин, а отже, пошкодження респіраторного епітелію та бронхіальної дисфункції [9]. Таким чином, у наукових джерелах все більше уваги приділяється вивченню нових лабораторних маркерів діагностики бронхіоліту у дітей раннього віку.

Мета дослідження

Провести аналіз рівня білка CC16 у сироватці крові дітей раннього віку, хворих на бронхіоліт.

Матеріал та методи дослідження

Проведене клінічне обстеження 70 дітей раннього віку. Основну групу склали 35 дітей із бронхіолітом без обтяженого алергологічного анамнезу. Групу порівняння становили 25 дітей, хворих на бронхіоліт, які мали обтяжений алергологічний анамнез. До контрольної групи було включено 10 умовно здорових дітей. Середній вік дітей основної групи становив $8,4 \pm 1,6$ міс, групи порівняння – $6,2 \pm 1,4$ міс та дітей контрольної групи $6,4 \pm 1,2$ міс.

Критеріями включення до дослідження були: діти хворі на бронхіоліт, доношені діти, вік дітей від 0 до 12 міс., інформована згода від батьків дитини на участь у дослідженні. Критеріями виключення із дослідження були діти із вродженими вадами розвитку бронхо-легеневої системи, серцево-судинної системи, діти із бронхолегеневою дисплазією, гастроєзофагеально-рефлюксною хворобою та передчасно народжені немовлята. До комплексу клініко-лабораторного обстеження дітей входило: вивчення анамнезу життя, анамнезу захворювання, перинатального та алергологічного анамнезів; проведення об'єктивного обстеження за загальноприйнятими методиками; визначення рівня білка CC16 в сироватці крові. Вміст CC16 в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором "Human CC16 ELISA Kit". Статистична обробка отриманих даних проводилася із використанням програмного пакету IBM SPSS «STATISTICA 12» StatSoft Inc. та Excel XP для Windows 10 на персональному комп'ютері з використанням параметричних і непараметричних методів обчислення.

Дослідження погоджено Комісією з питань біомедичної етики щодо дотримання морально-правових правил проведення медичних наукових досліджень Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова. Встановлено, що дослідження не суперечать основним біоетичним нормам і відповідають принципам відповідності основним положенням GCP (1996), Конвенції Ради Європи з прав людини і біомедицини (04.04.1997), Гельсінкської декларації. Всесвітньої медичної асоціації з етичних засад дослідження за участю людини (1964-2008) та наказ МОЗ України №690 від 23.09.2009 (зі змінами,

внесеними згідно з наказом МОЗ України № 523 від 12.07.2012). Усі пацієнти були поінформовані про мету та можливі наслідки дослідницьких процедур. Усі пацієнти перед маніпуляцією підписали інформовану письмову згоду на участь у дослідженні.

Результати дослідження

При проведенні дослідження встановлено, що у дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного анамнезу середнє значення білка CC16 ($38,9 \pm 4,5$ нг/мл) було достовірно вищим, ніж у дітей, хворих на бронхіоліт із обтяженим алергологічним анамнезом, ($22,9 \pm 3,3$ нг/мл), (OR=1,667; 0,854 - 3,250 95% CI; $p < 0,05$). У дітей контрольної групи середнє значення рівня білка CC16 знаходилось у межах референтних значень ($14,2 \pm 2,12$ нг/мл).

Необхідно зазначити, що у більшості дітей основної групи (22 ($62,8 \pm 6,4$ %) обстежених) визначався підвищений рівень білка CC16 із його середнім значенням ($53,9 \pm 4,6$ нг/мл). Тоді як, лише у 13 ($37,2 \pm 16,4$ %) дітей основної групи рівень даного білка знаходився у межах референтних показників із його середнім значенням ($12,15 \pm 2,1$ нг/мл), (OR=1,272; 0,435 - 3,717 95% CI; $p < 0,05$). Щодо дітей групи порівняння, то у більшості обстежених дітей (13 ($51,8 \pm 14,4$ %) рівень білка CC16 був зниженим, із його середнім значенням ($8,53 \pm 1,69$ нг/мл). У решти дітей групи порівняння (12 ($48,2 \pm 15,2$ %) рівень білка CC16 був у межах норми із його середнім значенням ($19,2 \pm 2,62$ нг/мл), (OR=2,708; 0,925 - 7,927 95% CI; $p < 0,05$).

Необхідно зазначити, що хоча у дітей групи порівняння середнє значення білка CC16 знаходилось у межах референтних значень ($22,9 \pm 3,3$ нг/мл), проте було достовірно вищим, ніж у дітей контрольної групи ($14,2 \pm 2,12$ нг/мл), (OR=1,153; 0,342 - 3,884 95% CI; $p < 0,05$).

У подальшому нами проведений аналіз специфічності та чутливості показника білка CC16 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіоліт із обтяженим алергологічним анамнезом (рис.1).

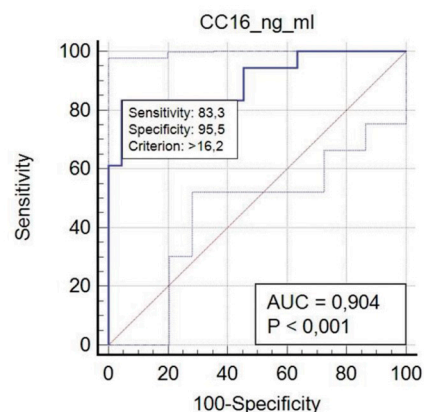


Рисунок 1. ROC-curve визначення CC16

Аналіз оцінки специфічності та чутливості показника вмісту білка CC16 в сироватці крові дітей малюкового віку хворих на бронхіоліт, показав що площа AUC під ROC-кривою склала 0,904 [0,769-0,974 95 % ДІ]. Точка відсічки знаходиться

на рівні 16,2 нг/мл (чутливість 83,3 %, специфічність 95,5%). Тоді як у дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного анамнезу чутливість значення білка CC16 значно знижувалася (чутливість 55,0 %) при збереженні специфічності (82,0 %); площа AUC під ROC-кривою склала 0,706 [0,344-0,706 95 % ДІ], точка відсічки знаходиться на рівні 11,6 нг/мл.

Обговорення результатів дослідження

На сьогодні доведено, що рівень білка CC16 в сироватці крові може свідчити про цілісність бронхіального епітелію та розвиток бронхіальною дисфункції [10]. Згідно наукових досліджень останніх років, підвищення рівня білка CC16 у сироватці крові у відповідь на дію токсичних речовин, які виділяються вірусами, бактеріями та шкідливих факторів навколишнього середовища свідчать про його потенційну корисність як надійного маркера для раннього виявлення гострих пошкоджень дихальних шляхів і в тому числі бронхіоліту [11]. Сучасні дані літератури свідчать про зниження рівня білка CC16 у сироватці крові у пацієнтів, які мають схильність до ранньої алергічної сенсibiliзації та розвитку клінічних проявів алергічного захворювання [12].

Відомо, що білок CC16 володіє протизапальними та імунорегуляторними властивостями і вважається ендogenous захисним білком при запальних захворюваннях дихальних шляхів [13].

У нашому дослідженні ми мали на меті дослідити можливу роль білка CC16 як діагностичного маркера у дітей хворих на бронхіоліт у залежності від обтяженого алергологічного анамнезу. Враховуючи поширеність бронхіоліту у дітей раннього віку, схильність дітей із обтяженим алергологічним анамнезом до важкої інфекції RSV та ризиком розвитку бронхіальної дисфункції, використання біомаркерів для раннього передбачення та прогнозу має клінічне значення [14]. Мутація в гені білка CC16 була пов'язана з підвищеним ризиком алергічних захворювань в дитинстві, що супроводжується значним зниженням рівня CC16 у сироватці крові [15]. Загалом, нижчі рівні білка CC16 у сироватці крові були пов'язані з алергічною сенсibiliзацією та астмою [16].

У ході нашого дослідження було виявлено, що

у дітей раннього віку хворих на бронхіоліт, підвищення рівня білка CC16 асоціюється із запальним процесом у бронхах. Необхідно зазначити, що підвищення рівня білка CC16 у дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного, був достовірно вищим, ніж у дітей із обтяженим алергологічним анамнезом.

Під час проведення дослідження, встановлено підвищення рівня білка CC16 в сироватці крові дітей раннього віку, які знаходились на стаціонарному лікуванні. Отримані нами дані щодо підвищення рівня білка CC16 в сироватці крові дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного анамнезу узгоджується із даними літератури [17].

У ході нашого дослідження була визначена роль білка CC16, як діагностичного маркера при бронхіоліті у дітей раннього віку. Так, відповідно, до проведених досліджень, CC16 має високу специфічність та чутливість у дітей раннього віку хворих на бронхіоліт. На нашу думку, залишається актуальним питання встановлення зв'язку між рівнем білка CC16 та рівнем вітаміну Д, показниками ендотеліальної дисфункції, що й визначає перспективи подальших досліджень.

Висновки

У дітей раннього віку підвищений рівень білка CC16 може розглядатися як маркер ураження дихальних шляхів при бронхіоліті. У дітей хворих на бронхіоліт, які мали обтяжений алергологічний анамнез, рівень білка CC16 в сироватці крові був достовірно нижчим у порівнянні з дітьми без обтяженого алергологічного анамнезу. Чутливість та специфічність визначення рівня білка CC16 в сироватці крові була достовірно вищою у дітей, хворих на бронхіоліт без обтяженого алергологічного анамнезу (AUC 0,904 (p=0,01)).

Перспективи подальших досліджень: проведено дослідження доповнює діагностичні можливості бронхіоліту, але залишається актуальним питання визначення зв'язку рівня білка CC16 із рівнем вітаміну Д та ендотеліальною дисфункцією.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Джерела фінансування: самофінансування.

Література:

1. Kou M, Hwang V, Ramkellawan N. Bronchiolitis: From practice guideline to clinical practice. *Emerg Med Clin North Am.* 2018;36(2):275-86. doi: 10.1016/j.emc.2017.12.006
2. Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection: an illness for all ages. *Clin Chest Med.* 2017;38(1):29-36. doi: 10.1016/j.ccm.2016.11.010
3. Guerra S, Vasquez MM, Spangenberg A, Halonen M, Martin RJ. Club cell secretory protein in serum and bronchoalveolar lavage of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(3):932-4.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.047
4. Egron C, Labbé A, Rochette E, Mulliez A, Bernard A, Flore A. Urinary club cell protein 16 (CC16): Utility of its assay during acute bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol.* 2020;55(2):490-5. doi: 10.1002/ppul.24584
5. Genies MC, Kim JM, Pyclik K, Rossi S, Spicyn N, Serwint JR. Impact of an educational intervention to improve physician adherence to bronchiolitis clinical practice guidelines: A pre-post intervention study. *Clin Pediatr (Phila).* 2018;57(3):253-8. doi: 10.1177/0009922817698804
6. Fukumoto J, Soundararajan R, Leung J, Cox R, Mahendrasah S, Muthavarapu N, et al. The role of club cell phenoconversion and migration in idiopathic pulmonary fibrosis. *Aging.* 2016;8(11):3091-9. doi: 10.18632/aging.101115
7. Tata PR, Rajagopal J. Plasticity in the lung: making and breaking cell identity. *Development.* 2017;144(5):755-66. doi: 10.1242/dev.143784
8. Rokicki W, Rokicki M, Wojtacha J, Dżeljić A. The role and importance of club cells (Clara cells) in the pathogenesis of some respiratory diseases. *Kardiochir Torakochirurgia Pol.* 2016;13(1):26-30. doi: 10.5114/kitp.2016.58961
9. Liu M, Lu J, Zhang Q, Zhang Y, Guo Z. Clara cell 16 kDa protein mitigates house dust mite-induced airway inflammation and damage via regulating airway epithelial cell apoptosis in a manner dependent on HMGB1-mediated signaling inhibition. *Mol Med [Internet].* 2021[cited 2022 Jun 11];27(1):11. Available from: <https://molmed.biomedcentral>.

com/articles/10.1186/s10020-021-00277-4 doi: 10.1186/s10020-021-00277-4

10. Zhai J, Insel M, Addison KJ, Stern DA, Pederson W, Dy A, et al. Club cell secretory protein deficiency leads to altered lung function. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;199(3):302-12. doi: 10.1164/rccm.201807-1345OC

11. Lin J, Zhang W, Wang L, Tian F. Diagnostic and prognostic values of Club cell protein 16 (CC16) in critical care patients with acute respiratory distress syndrome. *J Clin Lab Anal [Internet]*. 2018[cited 2022 Jun 12];32(2):e22262. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5836869/pdf/JCLA-32-e22262.pdf> doi: 10.1002/jcla.22262

12. Hunderi JOG, Rolfsjord LB, Carlsen KCL, Holst R, Bakkeheim E, Berents TL. et al. Virus, allergic sensitisation and cortisol in infant bronchiolitis and risk of early asthma. *ERJ Open Res [Internet]*. 2020 [cited 2022 Jun 12];6(1):00268-2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7073413/pdf/00268-2019.pdf> doi: 10.1183/23120541

13. Spella M, Lilis I, Stathopoulos GT. Shared epithelial pathways to lung repair and disease. *Eur Respir Rev [Internet]*. 2017[cited 2022 Jun 09];26(144):170048. Available from: <https://err.ersjournals.com/content/errev/26/144/170048.full.pdf> doi: 10.1183/16000617.0048-2017

14. Sonntag HJ, Filippi S, Pipis S, Custovic A. Blood Biomarkers of Sensitization and Asthma. *Front Pediatr [Internet]*. 2019[cited 2022 Jun 10];7:251. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6593482/pdf/fped-07-00251.pdf> doi: 10.3389/fped.2019.00251

15. Guzmán-Bárceñas J, Calderón-Moore A, Baptista-González H, Irlés C. Clara cell protein expression in mechanically ventilated term and preterm infants with respiratory distress syndrome and at risk of bronchopulmonary dysplasia: a pilot study. *Can Respir J [Internet]*. 2017[cited 2022 Jun 11];2017:8074678. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/crj/2017/8074678/> doi: 10.1155/2017/8074678

16. Genies MC, Kim JM, Pyelik K, Rossi S, Spicyn N, Serwint JR. Impact of an educational intervention to improve physician adherence to bronchiolitis clinical practice guidelines: a pre-post intervention study. *Clin Pediatr (Phila) [Internet]*. 2018[cited 2022 Jun 12];57(3):253-8. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/0009922817698804> doi: 10.1177/0009922817698804

17. Almutashiri S, Zhu Y, Han Y, Wang X, Somanath PR, Zhang D. Club cell secreted protein CC16: potential applications in prognosis and therapy for pulmonary diseases. *J Clin Med [Internet]*. 2020;9(12):4039. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7764992/pdf/jcm-09-04039.pdf> doi: 10.3390/jcm9124039

CC16 ROLE IN BRONCHIOLITIS IN YOUNG CHILDREN

N.I. Tokarchuk, A.A. Overchuk

National Pirogov Memorial Medical University (Vinnytsya, Ukraine)

Summary

Introduction. CC16 protein is secreted by Club epithelial cells of the bronchioles, maintains homeostasis of the airway epithelium and has anti-inflammatory effects in the lungs. It is important to study the level of CC16 protein in the serum in order to understand the integrity of the bronchial epithelium and the development of bronchial dysfunction in young children with bronchiolitis.

Aim of the study. Analysis of blood serum CC16 concentration in younger bronchiolitis patients.

Material and methods. We clinically examined 70 young children. The main group consisted of 35 non-allergic bronchiolitis patients. The comparison group included 25 young bronchiolitis patients with a history of allergies. The control group comprised 10 conditionally healthy children. The average age of patients was 8.4 ± 1.6 months, 6.2 ± 1.4 , and 6.4 ± 1.2 months in the main, comparison, and control group, accordingly. The complex of clinical-and-laboratory examination of children included CC16 serum tests. Serum CC16 content was determined by enzyme-linked immunosorbent assay according to the "Human CC16 ELISA Kit".

Results of the study. It should be noted that the most main group patients (22 ($62.8 \pm 6.4\%$) of all examined) had elevated CC16 readings. Whereas in the comparison group we did not find an increase in CC16 protein in any case. In contrast, 13 ($51.8 \pm 14.4\%$) children with bronchiolitis with a history of allergy had a decrease in CC16 protein, which may be a sign of endothelial dysfunction ($p = 0.01$).

The study showed that young non-allergic bronchiolitis patients had the mean CC16 (38.9 ± 4.5 ng/ml) significantly higher than those with a history of allergies (22.9 ± 3.3 ng/ml), (OR=1,667; 0,854 - 3,250 95% CI; $p < 0,05$). The control group patients had the mean CC16 within the reference interval (14.2 ± 2.12 ng/ml).

Conclusions. In young children, elevated CC16 may be considered a marker of respiratory failure in bronchiolitis patients. Bronchiolitis patients with a history of allergies had statistically significantly lower serum CC16 levels than those in children without a history of allergies.

Key words: Bronchiolitis; Young Children; Protein CC16.

Контактна інформація:

Токарчук Надія Іванівна – д.мед.н, професор кафедри педіатрії №1 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

e-mail: nadia_tokarchuk@ukr.net

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6868-6596>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/U-4036-2017>

Contact Information:

Nadezhda Tokarchuk – MD, Pprofessor of the Department of Pediatrics №1 of the National Pirogov Memorial Medical University (Vinnitsa, Ukraine)

e-mail: nadia_tokarchuk@ukr.net

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6868-6596>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/U-4036-2017>

© Н.І. Токарчук, А.А. Оверчук, 2022

© N.I. Tokarchuk A.A. Overchuk, 2022



Надійшло до редакції 12.03.2022 р.
Підписано до друку 14.05.2022 р.