

УДК 616 - 053.2 – 039.35:612.017.1 - 07

БИОМАРКЕРЫ АДАПТАЦИОННОГО РИСКА СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ ЗДОРОВЬЯ ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ

Л.И. Пономарева

Тверская ГМА Минздравсоцразвития России

В статье представлены результаты исследования внутрисосудистого эндогенного ауторозеткообразования и состояния аутомикрофлоры кожи у часто болеющих детей с гипертрофией аденоидов и хроническим аденоидитом. Выявленные особенности свидетельствуют об адаптационно-регуляторных нарушениях, что позволяет использовать названные методы в качестве биомаркеров снижения уровня здоровья данной категории детей.

Ключевые слова: *часто болеющие дети, аденоиды, факторы риска, эндогенное ауторозеткообразование, аутомикрофлора кожи.*

Согласно общепринятому в России определению, «часто болеющие дети» (ЧБД) – это группа диспансерного наблюдения, включающая детей с частыми респираторными инфекциями, возникающими из-за транзиторных, корригируемых отклонений в защитных системах организма и не имеющих стойких органических нарушений в них [13, с. 2–3].

В структуре заболеваемости часто болеющих детей одной из наиболее распространенных является патология лимфоидной ткани носоглотки [3, с. 4–5], локализующейся в так называемой «стратегической зоне», где регистрируется наиболее интенсивное антигенное воздействие [6, с. 98; 14, с. 137–138]. По мере ухудшения состояния лимфоидного кольца происходят изменения в иммунной системе [4, с. 40–42; 16, с. 61–62], характеризующиеся крайней напряженностью процессов реагирования, нарушением межклеточной кооперации и недостаточностью резервных возможностей, изменения гомеостаза [8, с. 103–104], перенапряжение и истощение адаптационно-приспособительных механизмов [12, с. 10–11; 13, с. 7;], что в конечном итоге приводит к снижению уровня здоровья, снижению группы здоровья.

Несмотря на значительное число проведенных в этом направлении исследований [1, с. 5–6; 6, с. 98, 103–104], требуют более углубленного изучения вопросы индикации риска снижения уровня здоровья часто болеющих детей с различными состояниями лимфоидной ткани носоглотки, а также возможности использования новых методик как предикторов адаптационно-регуляторных изменений

для прогностической оценки снижения уровня здоровья и превентивной коррекции.

Исходя из вышеизложенного, целью исследования послужило выявление факторов риска снижения уровня здоровья часто болеющих детей с различными состояниями глоточной миндалины.

Для решения поставленной задачи нами был обследован 241 ребенок (117 мальчиков и 124 девочки) в возрасте от 3 до 7 лет. Обследование проводилось на основе добровольного информированного согласия родителей или законных представителей детей.

Основными базами исследования были детский сад № 55, средняя школа № 10, детская городская больница № 1 г. Твери. Все дети в зависимости от уровня здоровья (согласно Приказу МЗ РФ № 621 от 30.12.2003) были разделены на 3 группы: основную группу обследования составили 118 детей II группы здоровья (ЧБД с гипертрофией глоточной миндалины I-II степени без клинических и эндоскопических признаков воспаления), в группу сравнения вошли 96 детей III группы здоровья (ЧБД с хроническим аденоидитом, иная патология была исключена), в контрольную 27 здоровых детей I группы здоровья.

В исследовании были использованы методики, обладающие высокой пропускной способностью (экспрессностью), неинвазивностью, безболезненностью и технической простотой исполнения, а именно: оценка внутрисосудистого эндогенного ауторозеткообразования (ЭАРО) (патент на изобретение №2328745 от 10.07.2008) и состояния аутомикрофлоры кожи (АМФК).

Оценка (ЭАРО) [2, с. 61] проводилась методом световой микроскопии в традиционных мазках периферической крови. Обоснованием использования исследования феномена ЭАРО в периферической крови в качестве факторов риска формирования хронической патологии глоточной миндалины служит участие межклеточных ассоциаций в морфо-, пато- и иммуногенезе патологических процессов, что имеет прогностическое и диагностическое значение в клинической практике [5, с. 16; 15, с.4].

Феномен ЭАРО заключается в присоединении эритроцитов к мембранам моноцитов или гранулоцитов с образованием клеточных структур, внешне напоминающих розетки, в настоящее время рассматривается как один из генетически детерминированных механизмов иммунологических и гемостатических сдвигов [2; 10, с. 111]. Исследование ЭАРО является общедоступным и недорогим методом, пригодным к применению в любом лечебном учреждении.

У всех обследованных проводился забор капиллярной крови в стандартных условиях. Мазки окрашивались по Романовскому-Гимзе.

Подсчет эндогенных ауторозеток в периферической крови осуществляли с помощью световой микроскопии (микроскоп «БИОЛАМ», увеличение 7х90). За ауторозетку принимали клеточную ассоциацию, состоящую из лейкоцита и плотно прилегающих к нему трех и более эритроцитов. Проводили подсчет ауторозеток на 100 лейкоцитов. Учитывали ауторозетки с экзоцитарным лизисом.

Исследование аутомикрофлоры кожи (АМФК) проводилось методом агаровых отпечатков на среду Коростелева по Н.Н. Клемпарской (1972) [9, с. 5]. Обоснованием использования исследования АМФК в качестве диагностических критериев степени риска снижения уровня здоровья служит зависимость между составом АМФК и состоянием иммунологической реактивности организма [7, с. 245; 9, с. 3–5]. Тест АМФК применяется с целью раннего выявления нарушений адаптационных возможностей организма и позволяет оценить их степень на донологическом уровне [7, с. 245]. В нашем исследовании этот метод рассмотрен с позиций связи особенностей АМФК с патологией лимфоидной ткани носоглотки. Метод атравматичен, эпидемически безопасен, быстро выполняем, позволяет проводить массовые скрининговые обследования.

Обследование проводили методом агаровых отпечатков на среду Коростелева (100 мл мясопептонный агар с добавлением 1 г маннита и 0,3 мл 1,6 % спиртового раствора бромтимолового синего). Использовались «Бактотесты», предоставленные ФГУ Центр Госсанэпиднадзора по Тверской области. По числу выросших колоний определяли уровень аутомикрофлоры: «нормальный», свидетельствующий о хорошей антимикробной резистентности кожи и общей иммунологической резистентности (состояние здоровья), – < 20 КОЕ/отпечаток; «повышенный» – 21–100 КОЕ/отпечаток и «высокий», свидетельствующие о снижении антимикробной резистентности кожи и общей иммунологической резистентности (состояние предболезни), – > 100 КОЕ/отпечаток [7; 9].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программы Microsoft Excel 06, Biostat, Statistica 6 for Windows XP Professional (Реброва О.Ю., 2006). Для оценки достоверности полученных результатов использовались параметрические (критерий Стьюдента с учетом поправки Бонферони для сравнения более двух групп наблюдения, хи-квадрат) и непараметрические критерии (метод угловых отклонений Фишера, критерий Розенбаума). Различия между группами считались достоверными при значении показателей не менее $p < 0,05$.

На первом этапе проведено исследование эндогенного ауторозеткообразования (ЭАРО) в периферической крови у ЧБД с различными состояниями глоточной миндалины. Известно, что

ауторозетки (АР) формируют все без исключения виды лейкоцитов, однако наиболее активными в этом отношении являются нейтрофилы и моноциты [5, с. 8; 15, с. 6].

Наши исследования также показали, что у детей всех обследуемых групп основными розеткообразующими клетками являлись нейтрофилы и моноциты, как исключение отмечались эозинофильные (0,7 %), базофильные АР (0,2 %), вообще не регистрировались тромбоцитарные АР (ТАР). Отсутствие тромбоцитарных АР согласуется с данными ряда авторов [11, с. 63-64], связывающих их наличие с тяжелыми хроническими заболеваниями, вторичными иммунодефицитами, что, следовательно, может служить косвенным подтверждением мнения о транзиторных, функциональных изменениях иммунитета у ЧБД [8, с. 104; 17, с. 129-130].

Интенсивность ЭАРО в группах обследования изменялась. Если у здоровых детей общее число АР в капиллярной крови составило $6,4 \pm 0,6$ % ($p < 0,001$), то у детей основной группы обследования (с гипертрофией аденоидов I-II степени) отмечалось резкое увеличение интенсивности ЭАРО, число которых составляло в среднем $14,1 \pm 1,5$ % ($p_{1-2}, p_{1-3} < 0,001$), в то время как у детей III группы здоровья (с хроническим аденоидитом) интенсивность ЭАРО составила $6,2 \pm 0,7$ % ($p_{1-2}, p_{1-3} < 0,001$) и практически не отличалась от активности ЭАРО в группе здоровых детей. Но в этой группе появились АР с экзоцитарным лизисом, т. е. была выше цитотоксичность розеткообразующих клеток, что проявлялось в разрушении эритроцитов в образованных клеточных ассоциациях [5, с. 12; 15, с. 11], тогда как у детей группы обследования и здоровых АР с экзоцитарным лизисом не выявлялись. Полученные данные позволяют рассматривать процесс ЭАРО как общую иммунологическую реакцию организма, направленную на элиминацию патологических форм эритроцитов из гемодинамики, так как иммунная система и гемостаз тесно взаимосвязаны [2, с. 61; 10, с. 113].

При исследовании межклеточных взаимодействий мы обратили внимание и на характер ЭАРО. Нами была выявлена зависимость соотношения нейтрофильных (НАР) и моноцитарных (МАР) ауторозеток от состояния лимфоидной ткани носоглотки (рис. 1).

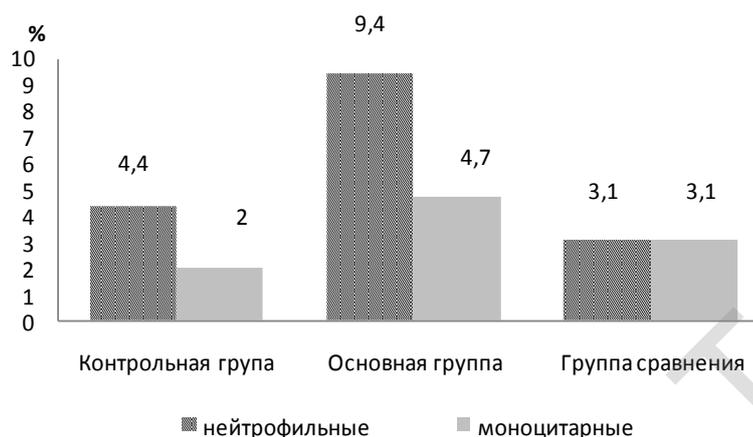


Рис. 1. Интенсивность эндогенного ауторозеткообразования в периферической крови детей обследуемых групп

У детей группы обследования (с гипертрофией аденоидов I–II степени) соотношение НАР и МАР составляло 2:1, так же как и у здоровых детей, но уровень интенсивности ЭАРО был в два раза выше, чем в контрольной группе, что, по нашему мнению, может свидетельствовать об активизации межклеточных взаимодействий и напряжении процессов иммуногенеза. Напротив, у детей группы сравнения (с хроническим аденоидитом) интенсивность ЭАРО снижалась, ауторозеткообразование обеспечивалось за счет увеличения содержания моноцитарных АР, соотношение НАР и МАР составило 1:1, что может служить маркером начинающихся процессов истощения иммунологической адаптации. Следовательно, выявленные изменения интенсивности ЭАРО могут служить прогностическим критерием риска снижения уровня здоровья ЧБД с патологией лимфоидной ткани носоглотки.

На втором этапе для выявления степени нарушения неспецифической резистентности использовались иммунологические методы по определению поверхностной аутомикрофлоры кожи, так как состояние нормальной микрофлоры (нормофлоры) является одним из важных показателей здоровья организма и рассматривается как индикатор поражения организма [7, с. 245–246; 9, с. 5–7].

Результаты оценки АМФК обследуемых групп детей представлены на рис. 2.

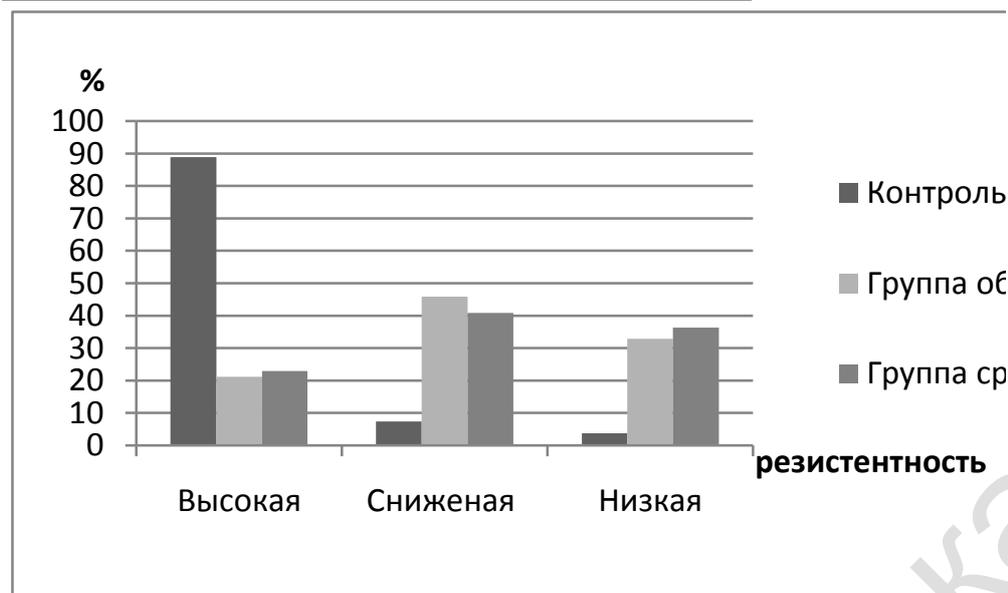


Рис. 2. Уровень резистентности детей по тесту АМФК в группах обследования

При исследовании неспецифической резистентности обследуемых групп детей было выявлено следующее: показатели аутомикрофлоры у детей группы обследования (дети с гипертрофией аденоидов I–II степени) практически не отличались от таковых в группе сравнения (дети с хроническим аденоидитом). Так, процент детей со сниженной и низкой резистентностью (состояние предболезни) составил в этих группах 78,1 % ($p < 0,05$) и 77,1 % ($p < 0,05$) соответственно, а процент детей с «нормальным» уровнем АМФК, свидетельствующий о хорошей резистентности (состоянии здоровья) составил немногим более 20 % (21,9 % и 22,1 % соответственно) ($p < 0,05$). Этот факт позволил нам расценить наличие сниженной и низкой резистентности в группе обследования как дополнительный фактор риска развития хронической патологии лимфоидной ткани носоглотки. С другой стороны, различный уровень аутомикрофлоры (АМФК) (нормальный, повышенный и высокий), позволяет проводить ранжирование внутри группы на подгруппы низкой, средней и высокой степени риска, т. е. может иметь значение как прогностический признак при оценке состояния здоровья, а также динамический контроль эффективности коррекционных мероприятий.

Таким образом, в результате проведенных исследований было выявлено:

- изменения эндогенного ауторозеткообразования в виде снижения содержания нейтрофильных и повышения содержания моноцитарных

розеток (коэффициент 1:1) и высокого уровня аутомикрофлоры кожи (АМФК) (КОЕ >100) у ЧБД могут свидетельствовать об адаптационно-регуляторных нарушениях;

- выявленные нарушения адаптационных возможностей у ЧБД II группы здоровья свидетельствуют о предуготованности снижения уровня здоровья и необходимости своевременного проведения коррекционных мероприятий;

- методы эндогенного ауторозеткообразования и исследования аутомикрофлоры кожи помогают определить инициальный прогноз и могут быть использованы в качестве биомаркеров наряду с другими методами прогнозирования при обследовании широкого контингента детского населения для выявления групп риска снижения уровня здоровья часто болеющих детей с различными состояниями глоточной миндалины.

Список литературы

1. Алексеева Ю.А. Клинико-функциональные и метаболические критерии формирования и прогнозирования уровня здоровья детей и подростков: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Иваново, 2002. 43 с.
2. Бельченко Д.И. Эндогенное внутрисосудистое ауторозеткообразование // Иммунология. 1992. № 2. С. 61.
3. Борзов Е.В. Распространенность патологии лор-органов у детей // Новости оториноларингологии и логопатологии. 2002. № 1. С. 3–8.
4. Быкова В.П., Калинин Д.В. Иммуный барьер слизистых оболочек в современном прочтении // Росс. ринология. 2009. № 1. С. 40–43.
5. Волкова О.В. Эндогенное ауторозеткообразование в периферической крови и костном мозге при патологических состояниях, сопровождающихся изменениями гемопоэза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1997. 18 с.
6. Гаращенко Т.И., Гаращенко М.В., Овечкина Н.В. Клинико-иммунологическая эффективность иммунона у часто и длительно болеющих детей с патологией лимфоузлов // Педиатрия. 2009. Т. 88, № 5. С. 98–104.
7. Голубев А.С., Игнатов А.Н., Неудахин Е.В. Опыт применения теста аутомикрофлоры кожи (АМФК) в педиатрической практике // Русский мед. журнал. 2003. Т. 11, №3(175). С. 245–246.
8. Заплатников А.Л., Коровина Н.А. Часто болеющие дети: современное состояние проблемы // Вопр. практ. педиатрии. 2008. № 5. С. 103–109.
9. Клемпарская Н.Н. Некоторые итоги применения метода изучения видового состава микробов аутофлоры и показатели реактивности

- организма // Аутофлора здорового и больного организма: Сб. тр. Таллин, 1972. С. 3–7.
10. Кузник Б.И., Малезик В.П., Карпова Н.И. Состояние системы гемостаза и взаимодействие форменных элементов крови у детей, часто болеющих острыми респираторными вирусными инфекциями // Кубанский научный медицинский журнал. 2010. №18 (122). С. 110–115.
 11. Коричкина Л.Н., Лавриненко Л.В., Виноградова Т.С. Особенности феномена эндогенного ауторозеткообразования в периферической крови у больных злокачественными новообразованиями // Вопросы онкологии. 2008. № 1 (54). С. 62–64.
 12. Мизерницкий Ю.Л., Мельникова И.М. Частые респираторные заболевания у детей: современные представления // Рос. вестн. перинат. и педиат. 2009. № 3. С. 7–13.
 13. Острые респираторные заболевания у детей. Лечение и профилактика: науч.-практ. программа Междунар. фонда охраны здоровья матери и ребенка. М., 2004. 12 с.
 14. Самсыгина Г.А., Коваль Г.С. Проблемы диагностики и лечения часто болеющих детей на современном этапе // Педиатрия. 2010. Т. 89. № 2. 137–145.
 15. Фомина Ю.В. Образование эритроклазических кластеров и эндогенных ауторозеток в процессе иммуногенеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2006. 18 с.
 16. Brandtzaeg P. Tonsils and adenoids : everything the ENT-surgeon needs to know // 8-th International Congress of Pediatric Otorhinolaryngology: Book of Abstracts. 2002. P. 61–62.
 17. Coexistence of (Partial) immune defects and risk of recurrent respiratory infections / X. Bossuyt, L. Moens, E. Van Hoeyveld et al. // Clinical chemistry. 2007. V. 53. P. 124–130.

BIOMARKERS INDICATIVE OF THE DECLINING HEALTH LEVELS IN CHILDREN PRONE TO FREQUENT SICKNESS

L.I. Ponomareva

Tver State Medical Academy

The article demonstrates research results for intravascular endogenous auto-rosette formation as well the condition of skin auto-microflora in chronically sick children with adenoidal hypertrophy and chronic adenoiditis. Research results show an adaptive-regulatory dysfunction, which allows using described methods as biomarkers indicating deteriorating health levels in this category of children.

Keywords: *biomarkers, frequently ill children, adenoids, risk factors, endogenous autorosette formation, skin automicroflora.*

Об авторах:

ПОНОМАРЕВА Людмила Ивановна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры поликлинической педиатрии с основами формирования здоровья ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздравсоцразвития России» (170100, г. Тверь, ул. Советская, 4), e-mail: lponoma@yandex.ru