

На правах рукописи

Коробкина Анна Геннадьевна

**СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО И АДАПТИВНОГО
ИММУНИТЕТА У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ С
МАРКЕРАМИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ЭПШТЕЙН –
БАРР – ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ**

14.00.09. – Педиатрия

Автореферат

диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2009

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская Государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор

Козлова Светлана Николаевна

Официальные оппоненты

доктор медицинских наук, профессор

Санникова Наталья Евгеньевна

доктор медицинских наук, профессор

Теплова Светлана Николаевна

Ведущая организация

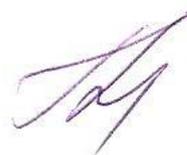
Санкт – Петербургский НИИ детских инфекций федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Защита диссертации состоится « 22 » декабря 2009 года в 10.00 часов на заседании диссертационного Совета Д.208.102.02, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская Государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу (620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава (620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17), а с авторефератом на сайте академии: www.usma.ru.

Автореферат разослан « 09 » ноября 2009 года

Ученый секретарь совета
по защите докторских диссертаций
доктор медицинских наук, профессор



Гришина И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Проблема часто болеющих детей последние 20-30 лет находится в области пристального внимания исследователей и ученых разных специальностей, однако значимость ее для практического здравоохранения в амбулаторно-поликлиническом звене и дошкольных учреждениях скорее отражает остроту проблематики и необходимость дальнейшего научного осмысления данного направления в педиатрии.

В отечественной педиатрии, на основе определения ВОЗ (1980), базирующееся на кратности эпизодов ОРЗ в год у детей, стойко сохраняется количественный подход, верифицирующий контингент часто болеющих детей по частоте эпизодов ОРЗ в год (В.Ю. Альбицкий, 1986; И.М. Воронцов, 1991; С.Н. Теплова, 1999; А.А. Баранов и соавторы, 1986). Одновременно предпринимаются попытки конкретизировать и расширить форматы понимания, вводя дополнительные критерии возраста, времени года, сезонности, длительности эпизодов ОРЗ, выделение соматического, оториноларингологического и смешанного типов (З.С. Макарова, 1998), варианта диатеза (Н.Е. Санникова, 1991), экологических факторов (И.А. Тузанкина, О.А. Синявская, 1993).

На современном этапе часто болеющие дети представляют наиболее серьезную проблему в педиатрии, ввиду высокой их доли от 1/2 до 1/7 в структуре численного состава детей (В.К. Таточенко, 2008, 2009) и отсутствия тенденции к снижению данного контингента (75-15%) (З.С. Макарова, 2004). Европейские исследования свидетельствуют, что часто болеющие дети составляют 3% в возрасте с 3 до 6 лет.

В последние годы отмечается рост хронических заболеваний ЛОР органов в популяции часто болеющих детей до 42-58% (А.В. Караулов, 2004), при этом частота диагностики колеблется от 50% до 70% (В.Н. Касаткина, 1998), а среди патологических состояний ЛОР органов, наиболее распространенными являются аденоидные вегетации. Иллюстрируют негативные тенденции аденоидов у детей следующие данные: в 50-60 гг. патология аденоидов встречалась у 4-16% детей, с 70-80 гг. число детей увеличилось до 29,2%, а в 1999 году аденоидные вегетации регистрируются у 37-76% детей (Lery F., 1999). Причинно-следственные факторы, раскрывающие понимание данных закономерностей недостаточно исследованы.

Научные публикации нацелены на поиск генеза иммунных дисфункций у часто болеющих детей. Установлено снижение популяции Т-лимфоцитов и В-клеток, фагоцитарной активности (Ю.Г. Резниченко, 2009), секреторного IgA в слюне (М.Р. Богомильский, 2000), снижение продукции IFN α лейкоцитами (М.П. Костинов, 2002), увеличение продукции TNF α в крови (И.И. Балоболкин, 2008; Л.М. Слободян, 2006). В сравнительном изучении воспалительных процессов в MALT доказано преобладание эозинофильного характера

воспаления у взрослых в отличие от детей. При хронических аденоидах конкретизирован субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток миндалин (М.З. Саидов, 2006).

Данные по уточнению этиологических факторов в развитии патологии глоточной миндалины у часто болеющих детей разноречивы, так, в первые 3 года отмечают преимущественно вирусную природу с превалированием индикации аденовирусов, энтеровирусов, в более старшем возрасте - *Streptococcus piogenes* (Хмельницкая Н. М., Власова В. В., 2000).

Имеются публикации о роли хронических герпесвирусных инфекций и частоты маркеров TORCH в системе «мать-дитя» у часто болеющих детей (С.Н. Козлова, 1995, 1999; Е.В. Савельева, 2002), уточнены показатели адаптивного иммунитета при цитомегаловирусной моно и mixed инфекциях, доказана значимость уровня цинка в крови и грудном молоке лактирующей женщины, показатели IFN γ в формировании часто болеющих детей ассоциированных с цитомегаловирусной инфекцией (С.Н. Козлова, Ж.Б. Бутабаева, 2006).

В научной литературе отсутствуют публикации о состоянии мукозального и адаптивного иммунитета у часто болеющих детей с сочетанной патологией носоглотки и аденоидными вегетациями, что определяет интерес к разработке данной проблемы.

Остается дискуссионным вопрос о методах лечения заболеваний глоточной миндалины. Учитывая торпидное течение аденоидных вегетаций основным способом лечения длительное время оставался хирургический. Продолжаются научные исследования по разработке органосберегающих подходов терапии с обоснованием применения антиоксидантов (Finlestein Y., Mali R. Z., 1997), топического применения глюкокортикоидной терапии с ингаляционным способом введения (Agertoft L., 1993) для купирования назальной обструкции.

Введение понятия «иммунокомпроментированный ребенок» у детей с повторными инфекциями, являлось основанием для применения иммуномодулирующей терапии у часто болеющих детей (М.Н. Яруев и соавторы, 2006; А.Л. Заплатников, А.В. Чебуркин, И.Н.Захарова, 2001; Т.И. Гаращенко, Н.В. Овечкина, Т.Г. Кац, 2003; Г.Ф. Железникова, В.В. Иванова, 2003).

Принимая во внимание дискуссионный характер данной проблемы во взглядах на этиологические и причинно-значимые факторы в развитии воспалительных процессов носоглотки, остается актуальным направление по уточнению значимости герпесвирусных инфекций в формировании патологии носоглотки, а следовательно, поиску оптимизации методов терапии.

Цель работы. Разработать клинко-иммунологическую концепцию формирования секреторного и адаптивного иммунитета при хронической EBV (Эпштейн-Барр-вирусной), CMV (цитомегаловирусной) и HSV (герпетической) инфекциях у часто болеющих детей с аденоидами I, II, III степени в системе «мать-дитя» и оптимизировать технологии лечения.

Задачи:

1. Уточнить особенности течения беременности и постнатального периода в системе «мать-дитя» у женщин, дети которых в последующем сформировали патологию глоточной миндалины.
2. Уточнить структуру и частоту выделения из носоглотки женщин и детей раннего возраста DNA герпесвирусов методом PCR (CMV, EBV, HSV).
3. Изучить частоту выделения DNA герпесвирусов в соскобах с задней стенки глотки у детей раннего возраста при аденоидных вегетациях I, II, III степени гипертрофии.
4. Оценить состояние секреторного иммунитета по показателям sIgA, продукции цитокинов (IL-4, IL-8, TNF α , IFN γ) в носоглотке детей с аденоидами I, II, III степени гипертрофии.
5. Оценить состояние адаптивного приобретенного иммунитета у детей с индикацией герпесвирусов (CMV, EBV, HSV, mixt-инфекции) из носоглотки.
6. Предложить технологию лечения часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины и прогрессивным течением герпесвирусных инфекций и оценить ее эффективность.
- 7.

Научная новизна. При комплексном изучении роли DNA герпесвирусных инфекций в риске формирования заболеваний ЛОР-органов впервые установлена значимость цитомегаловирусной и Эпштейн-Барр-вирусной инфекций в развитии ЛОР-патологии матери и развитии аденоидных вегетаций у часто болеющих детей в системе «мать-дитя».

Показана высокая частота индикации DNA герпесвирусов (CMV, EBV, HSV, mixt-инфекции) (85,8%) у матерей с хроническим фарингитом и хроническим тонзиллитом, дети которых в раннем возрасте сформировали патологию глоточной миндалины, в виде гипертрофии аденоидов I, II, III степени. Доказана значимость выделения типов DNA герпесвирусов (CMV, EBV, HSV, mixt-инфекции) в развитии гипертрофии аденоидных вегетаций у часто болеющих детей при II (73,2%) и III степени (75,5%) с превалированием индикации DNA EBV при аденоидах III степени (45,5%).

Разработана клинко-иммунологическая концепция и конкретизированы варианты формирования мукозального и адаптивного иммунитета при герпесвирусной CMV, EBV-моно и микстовой инфекции у часто болеющих детей с аденоидами I, II, III степени.

Мукозальный иммунитет у детей с аденоидами I степени, ассоциированный с CMV-инфекцией, характеризуется лимфоидно-нейтрофильным (39,9%) клеточным составом с незавершенным фагоцитозом (37,5%), повышенной продукцией TNF α , IFN γ , а со стороны адаптивного иммунитета увеличением лимфоцитов с фенотипом CD8, CD20.

Ассоциация CMV и EBV-инфекций проявлялась возрастанием в клеточном составе слизистой носоглотки лимфоцитов (84,1%), снижением удельного веса нейтрофилов (13,3%), нарастанием клеток с незавершенным

фагоцитозом (53,1%). Цитокиновый мукозальный ответ отличался повышением продукции IL4, TNF α , sIgA и свидетельствовал о иммунологическом сдвиге в сторону Th2 хелперного ответа с гиперпродукцией IgE, активацией NK-клеток.

У часто болеющих детей с аденоидами III степени с прогрессивным течением EBV-инфекции и индикацией DNA EBV и IgG NA EBV ($r=0,4$, $t=3,71$, $p<0,0004$) мукозальный иммунитет характеризуется лимфоцитарным характером клеточного состава с незавершенным фагоцитозом (56,1%). Цитокиновый ответ на EBV-инфекцию отражает активацию Th1 и Th2-ответа хелперного типа с гиперпродукцией IFN γ и IL4 с повышением IgE, CD3, CD4, CD20-лимфоцитов.

Определена прогностическая роль выявления DNA CMV, HSV, EBV герпесвирусов в носоглотке с хронической патологии ЛОР-органов матерей в формировании сдвигов в адаптивном иммунитете потомства: индикация DNA CMV с задней стенки глотки матерей и CD20-лимфоцитами у детей ($r_1=-0,4641$, $p<0,05$; $r_2=-0,5278$; хроническим тонзиллитом у матерей и содержанием CD8-лимфоцитов, NK-клеток у детей; DNA HSV с уровнем CD20, CD3, CD4-лимфоцитов ($r=-0,5132$; $r_2=-0,5562$; $r_3=-0,6139$, $p<0,01$).

Предложено научно-обоснованное применение противовирусных препаратов в лечении часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины и доказана их клиническая эффективность: восстановлено носовое дыхание, устранен ночной храп, сокращена степень гипертрофии лимфоидной ткани аденоидных вегетаций при терапии Ацикловиром (75%) ($p<0,001$), Вифероном (78,6%). Доказано, что дети с патологией глоточной миндалины, получившие этиотропное противовирусное лечение отличались более высокой резистентностью к острым респираторным инфекциям, сокращали длительность периода болезни, восстанавливали до нормативных показателей индекс резистентности. Назначение противовирусной терапии увеличивало продолжительность периода ремиссии: при аденоидах I степени до 230,5 дней; при II степени до 245,7 дней; при III степени – 243,5 дней ($p_{1,2,3}<0,05$).

Практическая значимость. Комплексный подход к изучению показателей здоровья в системе «мать-дитя» в семьях, женщины которых страдали хронической патологией ЛОР-органов, хроническими урогенитальными и герпесвирусными инфекциями позволил доказать значимость EBV, CMV, HSV, mixt- инфекции в риске развития патологии носоглоточной миндалины у часто болеющих детей, уточнить характер и степень выраженности этих нарушений у детей.

Предложен комплекс клинических, иммунологических и молекулярно-генетических критериев диагностики типов герпетических инфекций (DNA EBV, CMV, HSV, mixt) у детей с патологией ЛОР органов.

Определение уровня (IFN γ , IL4) и коэффициента соотношения цитокинов IFN γ , TNF α , IL4 является прогностическим критерием риска развития аденоидных вегетаций I, II, III степени.

Внедрение молекулярно-генетических методов исследования (ПЦР-диагностика) позволило разработать показания для назначения

противовирусных препаратов у часто болеющих детей с сочетанной патологией ЛОР органов и обосновать целесообразность оздоровления матерей.

Оптимизация противовирусной терапии с назначением противовирусных препаратов улучшила показатели здоровья детей, в виде сокращения частоты заболеваний у часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины: при аденоидах I степени у 67%, при аденоидах II степени у 85%, при III степени у 84%, $p < 0,01$ и продолжительности эпизодов заболевания с $7,4 \pm 0,8$ до $3,4 \pm 0,3$ дней, ($p < 0,01$).

Монотерапия препаратом «Ацикловир» обеспечивает наиболее эффективное восстановление носового дыхания – у 81,3% детей, назначение «Виферона» - у 71,5% детей.

Предложенное внедрение молекулярно-генетических методов обследования в амбулаторно-поликлиническом звене позволяет избежать оперативного вмешательства у детей с аденоидами, ассоциированными с EBV и CMV инфекцией.

Внедрение результатов. Дифференцированный подход к применению противовирусной терапии у часто болеющих детей с аденоидами I, II, III степени внедрен в работу АМЦ «Семья и здоровое поколение» ГОУ ВПО УГМА (директор, д. м. н., профессор С. Н. Козлова).

Мониторинг наблюдения за детьми с герпесвирусными инфекциями может являться основанием для внедрения высокотехнологичных методов на догоспитальном этапе в амбулаторно-поликлиническом звена.

Инновационные технологии диагностики герпесвирусных инфекций внедрены в постдипломную подготовку врачей Свердловской, Пермской, Ленинградской областях и используются в лекционном курсе на циклах тематического усовершенствования «Патология детей раннего возраста», «Внутриутробные и перинатальные инфекции», «Актуальные вопросы профилактики в педиатрии в амбулаторных условиях», «Педиатрия с детскими инфекциями» и практических занятий на кафедре профилактической педиатрии, инфекционной патологии и клинической иммунологии ФПК и ПП УГМА (2006, 2008), кафедре педиатрии ФПК и ПП (2009).

Апробация работы. Основные положения содержания диссертации доложены на итоговых научно-практической конференции НОМУС УГМА (2007), НОМУС «Здоровое поколение» (2007), Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные заболевания у детей: проблемы, поиски, решения» (Санкт-Петербург, 2007), I конгрессе педиатров Урала (Екатеринбург, 2008), Всероссийской научно-практической конференции «100 лет Российской оториноларингологии: достижения и перспективы» (Санкт-Петербург, 2008). По теме диссертации опубликовано в печати 6 работ, из них в рецензируемом журнале-3.

Положения, выносимые на защиту:

1. Выявление урогенитальных инфекций, хронических герпесвирусных инфекций у матерей с патологией ЛОР органов увеличивает риск развития у потомства аденоидных вегетаций I, II, III степени.

2. В развитии аденоидных вегетаций II и III степени имеет значимость хроническая моно-CMV, HSV, EBV, частота индикации которой при аденоидах III степени достигает 45,5%.
3. Определение цитокинового состава и индексов соотношения IFN γ , IL4 в носоглоточных смывах позволяет прогнозировать у детей риск формирования гипертрофии глоточной миндалины II, III степени. Адаптивный иммунитет у детей характеризуется увеличением лимфоцитов с фенотипом CD8, CD20 при I степени аденоидов, гиперпродукцией IgE и активацией NK-клеток – при II степени, увеличением CD3, CD4, CD20-клеток и ростом продукции IgE – при III степени аденоидных вегетаций.
4. Ранняя диагностика EBV и CMV-инфекций с применением молекулярно-генетических методов обследования (ПЦР) и ИФА является основанием для назначения противовирусной терапии.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 190 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 34 таблицами, 14 рисунками, 1 выпиской из истории болезни. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего отечественных [103] и зарубежных [41] авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. В работе представлены материалы по изучению результатов ретроспективного/проспективного исследования 132 часто болеющих детей с гипертрофией лимфоидной ткани глоточной миндалины разной степени.

Проспективное наблюдение за часто болеющими детьми проводилось на базе Академического Медицинского центра «Семья и здоровое поколение» Уральской государственной медицинской академии (директор – д.м.н., проф. С.Н. Козлова). Дети наблюдались в течение 2-х лет (с 2006 по 2008 год), с кратностью осмотра 1 раз в 3 месяца. Возраст детей от 3 до 10 лет.

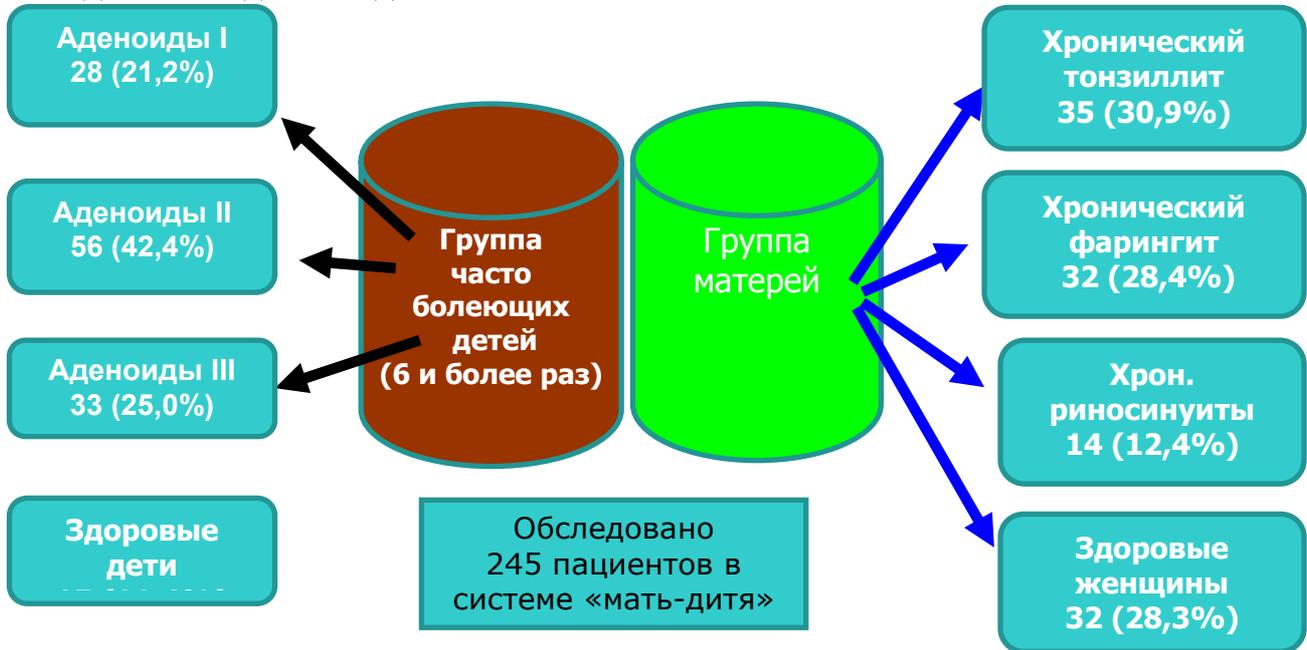
Критериями отбора в группы исследования явились возраст детей, кратность ОРВИ в течение года перед началом исследования (более 6 раз), сочетанная ЛОР-патология. В исследование не включались дети с острыми инфекционными и неинфекционными заболеваниями, обострением хронических заболеваний. По степени гипертрофии лимфоидной ткани носоглоточной миндалины среди часто болеющих детей выделены группы пациентов: с аденоидами I степени (n=28), с аденоидами II степени (n=56), с гипертрофией глоточной миндалины III (n=33). Контрольную группу составили здоровые дети (n=15).

В возрастной структуре доминировали дети с 3 до 6 лет – 69% (91 человек), дети с возрастом более 6 лет составили 31% (41 чел.).

В группе детей с 3 до 6 лет аденоиды I степени выявлялись у 18,7% (n=17), аденоиды II степени – у 32,9% (n=30), аденоиды III степени – у 48,4% (n=44). В старшей возрастной группе с 7 до 10 лет 19,5% детей (n=8) имели аденоиды I

степени, 48,8% (n=20) - аденоиды II степени, 31,7% (n=13) - аденоиды III степени.

На базе Академического медицинского центра проведено оториноларингологическое обследование матерей (n=113), дети которых находились под наблюдением.



Выделены группы матерей – с хроническим компенсированным тонзиллитом (n=35), с хроническим гипертрофическим фарингитом (n=32), с хроническим риносинуситом (n=14).

Контрольную группу составили здоровые матери (n=32). Изучение течения беременности у женщин проведено ретроспективно.

Этиологический фактор у часто болеющих детей изучали молекулярно-генетическим методом (ПЦР) в соскобах с задней стенки глотки наборами «Ампли-сенс на амплификаторе «Терцик МС-2 (г. Москва)» в АМЦ «Семья и здоровое поколение» (n=197).

Определение уровня антител класса IgM и IgG к герпесвирусам (CMV, EBV, HSV, mixt) осуществлено сэндвич-методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на аппарате «Stat Fax 303+» (n=197).

Цитокины IL4, IFN γ , TNF α и sIgA в смывах с задней стенки глотки у часто болеющих детей исследовали иммуноферментным методом (ИФА) на аппарате STAT FAX с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) в АМЦ «Семья и здоровое поколение» (n=57).

Иммунофенотипирование лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20) проводилось на проточном цитометре «Becton Dickinson» в Центре лабораторной диагностики болезней матери и ребенка (главный врач, д.м.н., профессор Я. Б. Бейкин) (n=52).

Клеточный состав соскобов с глоточной миндалины исследовался с помощью микроскопа Micros 300 (P) после окрашивания по Романовскому-Гимзе (n=37). При микроскопировании подсчитывали клетки в 10 полях зрения.

Расчет завершенности фагоцитоза проводили по методу Арефьевой Н. А. и Хмельницкой Ф. А. в риноцитогамме под имерсией. Среди фагоцитирующих клеток (нейтрофилов) учитывали процент целых нейтрофилов, содержащих внутри клетки микроорганизмы и процент разрушенных нейтрофилов, в цитоплазме которых сохранились не переваренные микроорганизмы.

Для оценки клинической эффективности предложенных методов лечения анализировались анамнестические данные: количество эпизодов ОРЗ в год, число курсов антибиотикотерапии, длительность течения ОРЗ до и после проводимой терапии, применялся расчет индекса резистентности, определяемый как соотношение суммы всех случаев ОРЗ в течении года к возрасту, который в норме составляет 0,2-0,3 [Самсыгина Г. А., 2008].

Обработка полученных данных проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин (M), средней ошибки (m), квадратичного отклонения. Для оценки достоверности различий между сравниваемыми величинами использовали компьютерную программу статистического анализа данных Statistika 6.0 для Windows 98 на компьютере Pentium III 600E. Проверка гипотезы о равенстве двух средних произведена с помощью t -критерия Стьюдента и непараметрических методов. Проверка соответствия сравниваемых данных нормальному распределению производилась с помощью встроенных графических функций программы статистического анализа Statistika 6.0.

Исследование зависимостей между переменными проведено с помощью парного коэффициента ранговой корреляции Спирмена R . Коэффициент ранговой корреляции Спирмена вычисляется как обобщенный коэффициент парной корреляции с заменой наблюдений их рангами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под наблюдением находились часто болеющие дети в возрасте от 3 до 10 лет, при этом дети с 3 до 6 лет составили 69% (91 человек), дети с возрастом более 6 лет - 31% (41 чел.).

При ранжировании групп использованы критерии В.Ю.Альбицкого и А. А. Баранова (1986г.), согласно которым к контингенту часто болеющих отнесены дети с кратностью эпизодов ОРЗ от 6 и более в год.

Уточнение клинических симптомов у часто болеющих детей с сочетанной патологией ЛОР-органов выявило высокую частоту заболеваний органов пищеварения: дисбактериоз отмечен у 43% детей в возрасте с 3-6 лет, в старшей возрастной группы с 7-10 лет у 14%, ($p < 0,05$), атопический дерматит у детей в возрасте с 3-7 лет (41%) относительно старшей возрастной группы с 7-10 лет (24%), ($p < 0,05$).

Синдром лимфаденопатии, проявляющийся увеличением лимфоузлов одной или нескольких групп, а также гепатомегалия отмечен практически у каждого второго ребенка ($p < 0,05$).

У всех детей наблюдался ночной храп (100%), гиперемия зева (100%), периодические или постоянные выделения из носа. В группе детей в возрасте с 3-6 лет достоверно чаще регистрировалась гипертрофия глоточной миндалины

(43%), чем в старшей группе (27%) ($p < 0,05$). Выявлены хронические заболевания в группе с 3-7 лет: хронический назофарингит (30%) ($p < 0,05$), хронический синусит (14%), хронический тонзиллит (20%). В группе с 7-10 лет достоверно чаще регистрировался хронический синусит (46%), хронический тонзиллит (43%) ($p < 0,05$).

Отмечено увеличение длительности периода заболевания в группе часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины III степени, относительно группы с аденоидами I и II степени ($p^* < 0,05$, $p^{**} < 0,05$) и увеличение количества курсов лечения антибактериальными препаратами в группах часто болеющих детей с аденоидами II и III степени, относительно группы с аденоидами I степени ($p^* < 0,05$, $p^{**} < 0,05$) (таблица 1).

Установлено сокращение длительности периодов ремиссии у часто болеющих детей с аденоидами II и III степени, относительно группы с аденоидами I степени ($p^* < 0,05$). У часто болеющих детей с сочетанной патологией глоточной миндалины констатируется увеличение индекса резистентности с $0,5 \pm 0,06$ до $0,8 \pm 0,04$ ($p < 0,05$).

Для определения особенностей течения беременности у матерей и их прогностической значимости в процессе формирования аденоидов у детей, рожденных от них, проведена комплексная оценка состояния здоровья 91 женщины.

Таблица 1

Количество эпизодов ОРВИ, длительность заболевания и индекса резистентности в группе часто болеющих детей с сочетанной патологией ЛОР органов и индикацией герпесвирусов

Показатели	Часто болеющие дети с аденоидами I степени и индикацией DNA герпесвирусов (n=28)	Часто болеющие дети с аденоидами II степени и индикацией DNA герпесвирусов (n=56)	Часто болеющие дети с аденоидами III степени и индикацией DNA герпесвирусов (n=33)
Число ОРВИ за 1 год	$7,1 \pm 0,2^*$	$8,7 \pm 0,4^{**}$	$9,4 \pm 0,31$
Длительность заболевания, дни	$7,5 \pm 0,32^*$	$8,9 \pm 0,3^{**}$	$9,5 \pm 0,3$
Количество курсов антибактериальной терапии в год	$4,4 \pm 0,1^*$	$5,6 \pm 0,2^{**}$	$6,2 \pm 0,24$
Длительность периода ремиссии, дни	$181,7^*$	$160,7$	$150,2$
Индекс резистентности	$0,5 \pm 0,06^*$	$0,7 \pm 0,02^{**}$	$0,8 \pm 0,04$

Примечание: * - $p < 0,05$ – достоверность результатов между исследуемыми группами и группой детей с аденоидами I степени;

** - $p < 0,05$ – достоверность результатов между группой часто болеющих детей с аденоидами II степени и III степени;

Ретроспективное исследование позволило установить высокую заболеваемость женщин острыми респираторными инфекциями, при этом ОРВИ до 20 недель беременности увеличивало риск формирования III степени аденоидов (63,6%) ($p < 0,05$), после 20 недель - II степени аденоидов (66,7%) ($p < 0,05$). У 70% матерей выявлена хроническая ЛОР патология в виде хронического

компенсированного тонзиллита, хронического гипертрофического фарингита и хронического риносинусита, диагностика которых повышает риск развития аденоидов II и III степени у детей ($p < 0,05$) (рис 1). У женщин, дети которых сформировали группу часто болеющих с сочетанной патологией ЛОР органов, регистрировался хронический пиелонефрит, относительно группы контроля ($p < 0,05$), что совпадает с данными литературы (Дондурей Е. А., 2004).

Характеризуя течение беременности у матерей, дети которых сформировали группу часто болеющих детей с сочетанной патологией ЛОР органов, выделены следующие особенности: высокая частота токсикоза (70% и 75,8%), гестоза (63,3% и 75,8%) и хронической фетоплацентарной недостаточности, которые регистрируются в 16,6 раз чаще при гипертрофии глоточной миндалины II степени и в 14 раз при III степени (50% и 42,2%), ($p_{1,2} < 0,05$) соответственно.

В постнатальном периоде у детей с патологическими изменениями глоточной миндалины продолжительное естественное вскармливание способствует формированию аденоидов I степени (64,3%) и снижает риск развития аденоидов II, III степени (26,7% и 15,2%) ($p_{1,2} < 0,05$). Сокращение периода грудного вскармливания до 1 месяца увеличивает риск развития аденоидов II, III степени (33,3% и 36,4%) относительно группы с аденоидами I степени (14,3%) ($p_{1,2} < 0,05$).

Нами отмечена высокая частота выявления у детей дисбактериоза в 93,3% и 81,8%; анемии у 80,0% и 78,8% при гипертрофии глоточной миндалины II, III степени ($p_{1,2} < 0,05$); аллергического дерматита (76,7%, и соответственно 90,9%, $p_{1,2} < 0,001$). Ранний эпизод ОРВИ до 3 месяцев в 72,3% определяет развитие аденоидов III степени, после 3 месячного возраста – 73,3% аденоидов II степени, $p < 0,001$ (рис 1).

В постнатальном периоде чаще регистрировались острые отиты в группах детей с аденоидами II, III степени – 54,6% и 40,0% соответственно, $p_{1,2} < 0,05$.

Следовательно, в постнатальном периоде отмечено ухудшение показателей в состоянии здоровья детей, сформировавших в последующем группу часто болеющих с сочетанной ЛОР-патологией с выявлением дисбактериоза, анемии, раннего дебюта ОРВИ, обструкции носового дыхания, острых отитов.

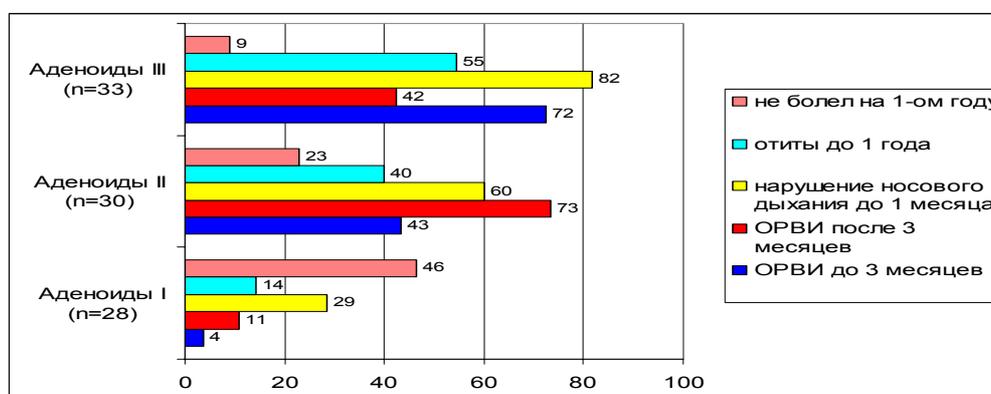


Рис 1. Влияние постнатальных факторов на формирование патологии глоточной миндалины у часто болеющих детей

Для уточнения роли герпесвирусных инфекций изучена частота выделения DNA CMV, EBV, HSV, mixt у часто болеющих детей с разной степенью гипертрофии аденоидов методом ПЦР в соскобах из зева представлена в табл. 2.

Индикация DNA герпесвирусов у детей с аденоидами II степени составила 73, 2%, что превышает значение группы с аденоидами I степени – 41,9% ($p<0,001$), при этом у каждого третьего ребенка наблюдалось выявление DNA CMV (33,9%).

У часто болеющих детей с аденоидами III степени индикация герпесвирусов (CMV, EBV, HSV, mixt) составила 75,8%, по сравнению со значениями у детей с аденоидами I степени – 41,9%, ($p<0,05$). Обращает внимание факт увеличения частоты индикации EBV у детей с аденоидами III степени против показателей детей с аденоидами I степени (17,0%, $p<0,05$).

Изучение структуры индикации герпесвирусов в пределах возрастных групп позволило выявить герпесвирусные маркеры в возрасте с 3 до 6 лет при аденоидах I степени в 28,6%, в группе с аденоидами II степени в 74,4%, при III степени гипертрофии глоточной миндалины в 78,6% случаев ($p<0,05$).

В старшей возрастной группе (с 7 до 10 лет) констатировано увеличение индикации DNA герпесвирусов до 57% - при аденоидах I степени, 64,7% - при аденоидах II степени и 70% - при аденоидах III степени, однако статистически значимых различий по показателям индикации DNA герпесвирусов между возрастными группами не получено.

Таблица 2

Этиологическая структура частоты индикации CMV, EBV, HSV, mixt-инфекции методом ПЦР из зева часто болеющих детей при патологии глоточной миндалины, %.

Вид возбудителя	Характер патологии носоглотки						Достоверность		
	Аденоиды I n=28		Аденоиды II n=56		Аденоиды III n=33				
	n	%	n	%	n	%	p1	p2	p3
CMV (n=29)	3	10,7	19	33,9	7	21,2	<0,05	>0,05	>0,05
EBV (n=34)	5	17,0	14	25,0	15	45,5	>0,05	<0,05	<0,05
HSV (n=4)	2	7,1	2	3,6	-	-	>0,05	>0,05	>0,05
CMV+HSV (n=4)	-	-	2	3,6	2	6,1	>0,05	>0,05	>0,05
CMV+EBV (n=7)	2	7,1	4	7,1	1	3,0	>0,05	>0,05	>0,05
герпесвирусы отсутствуют (n=39)	16	57,1	15	26,8	8	24,2	<0,05	<0,05	>0,05

Примечание: p1 – достоверность результатов между группами детей с аденоидами I и II;

p2 – достоверность результатов между группами детей с аденоидами I и III;

p3 – достоверность результатов между группами детей с аденоидами II и III.

Таким образом, выявлена высокая сопряженность обнаружения молекулярно-генетических маркеров герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с аденоидными вегетациями и установлен значительный вклад

CMV и EBV в процесс формирования гипертрофии и гиперплазии лимфоидной ткани глоточной миндалины у детей. Хроническая герпесвирусная инфекция, возможно, способствует нарушению процессов физиологической инволюции глоточной миндалины, что определяет сохранение гипертрофии лимфоидной ткани глоточной миндалины у детей старшей возрастной группы.

Уточнена взаимосвязь между частотой выделения EBV- инфекции в зеве и серологическими сдвигами в крови с выявлением титров антител IgG к ядерному антигену (NA-1) EBV ($r=0,25$, $t=2,2$, $p<0,05$) и маркеров DNA CMV и EBV инфекции в зеве и определением IgG к CMV и IgG (NA) EBV в крови ($r=0,26$, $t=3,37$, $p<0,02$) при аденоидах II степени, которые косвенно свидетельствуют в пользу подтверждения факта хронизации CMV и EBV инфекции.

У часто болеющих детей с гипертрофией аденоидов III степени сохраняются корреляционные взаимосвязи индикации маркера DNA EBV из зева и уровнем антител IgG к ядерному антигену (NA-1) EBV ($r=0,4$, $t=3,71$, $p<0,0004$); HSV инфекция в зеве и уровнем антител IgG к HSV в крови ($r=0,32$, $t=2,89$, $p<0,005$); CMV инфекция в зеве и уровнем антител IgG к CMV в крови ($r=0,33$, $t=2,73$, $p<0,008$).

Доказана значимость типов DNA герпесвирусов в развитии степени гипертрофии глоточной миндалины у детей, частота обнаружения которых при II достигает 73,2%, при III степени - 75,7%. У детей с аденоидами III степени увеличивается выделение DNA EBV-инфекции (45,5%).

Уточнена взаимосвязь характера ЛОР патологии матерей и частота индикации герпесвирусных маркеров с учетом патологии глоточной миндалины, которую формировали их дети.

В группе женщин с проявлениями хронического воспаления небных миндалин индикация герпесвирусов составила 88%. Риск развития у детей аденоидов II и III степени возрастает при наличии у матери хронического компенсированного тонзиллита и хронического гипертрофического фарингита, в сравнении с группой, где диагностированы аденоиды I степени ($p<0,002$). У женщин, не имеющих патологии ЛОР органов, дети формировали аденоиды I степени в 50,0% ($p<0,05$).

Корреляционный анализ между характером патологии носоглотки у матери и вирусным профилем DNA герпесвирусов детей обнаружил взаимосвязь хронического тонзиллита и хронического фарингита у женщин с повышением частоты индикации микстовой инфекции (CMV, EBV) из носоглотки детей при аденоидах I степени ($r_1=0,54$, $t_1=2,79$, $p_1<0,01$; $r_2=0,8$, $t_2=5,57$, $p_2<0,0003$). Выявлена корреляционная связь между хроническим риносинуситом у матерей и гипертрофией глоточной миндалины II степени у детей с повышением выделения вирусных ассоциаций (CMV, EBV) в соскобах с задней стенки глотки детей ($r=0,27$, $t=2,44$, $p<0,017$).

Для уточнения форм защитных реакций с участием факторов врожденного иммунитета проведено изучение клеточного состава соскобов из носоглотки с поверхности глоточных миндалин у часто болеющих детей с индикацией герпесвирусных инфекций методом ПЦР. Данные о структуре клеточных взаимодействий изложены в таблице 3.

У детей с индикацией герпесвирусов и гипертрофией глоточной миндалины I, II, III степени отмечается достоверное снижение нейтрофилов в составе клеточного пейзажа ($p < 0,05$).

Таблица 3

Клеточный состав соскобов из носоглотки у детей с индикацией герпесвирусов и гипертрофией аденоидных вегетаций(%)

Клеточный состав (%)	Контр. группа n=11	Степень аденоидов		
		Аденоиды I (CMV) n=8	Аденоиды II (CMV+EBV) n=9	Аденоиды III (CMV+EBV) n=9
Эозинофилы	0,2	0,3	0,3	0,3
Нейтрофилы	81,2	39,9*	13,3*	29,4*
Лимфоциты	17,1	57,4*	84,1*	68,7*
Моноциты	1,9	1,7	1	1,9
Завершенность фагоцитоза (%)	99,1	62,5*	46,9 *	43,9 *
Незавершенность фагоцитоза (%)	0,9	37,5 *	53,1 *	56,1 *

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность результатов между исследуемыми группами и контрольной.

Наиболее низкие значения числа нейтрофильных клеток отмечены в соскобах часто болеющих детей с аденоидами II (13,3%) и с аденоидами III степени (29,4%) и DNA позитивной mixed-герпесвирусной (CMV+EBV) инфекции.

У детей с моноцитомегаловирусной инфекцией и аденоидами I степени уровень нейтрофилов в соскобах из носоглотки в два раза ниже (39,9%) при сопоставлении с данными у детей контрольной группы с аденоидами I степени, но отсутствием обнаружения DNA герпесвирусов (81,2%). Увеличение степени гипертрофии глоточной миндалины у детей сопровождается нарастанием уровня лимфоцитоза в соскобе: при аденоидах I степени и моноцитомегаловирусной инфекции – 54,4%, при аденоидах II и III степени и выделении DNA CMV+EBV – 84,1% и 68,7% соответственно. Нарастание степени клинических проявлений гипертрофии аденоидных вегетаций сопровождается снижением показателя завершенности фагоцитоза: при аденоидах I степени - 62,5%, при аденоидах II степени - 46,9% и в группе с аденоидами III степени - 43,9% ($p_{1,2,3} < 0,05$).

Таким образом, клеточный тип реакции с преобладанием лимфоцитоза слизистой оболочки у часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины и индикацией DNA герпесвирусов и незавершенный фагоцитоз не обеспечивает адекватный и эффективный иммунный ответ, что создает условия для длительной персистенции герпесвирусов в носоглотке.

Для уточнения характера мукозального иммунного ответа по Th1 и Th2 типу изучен цитокиновый состав носоглоточных смывов (TNF α , IFN γ , IL-4, IL-8) и sIgA у часто болеющих детей с маркерами герпесвирусных инфекций и патологией глоточной миндалины (таблица 4).

При гипертрофии аденоидов I степени отмечено увеличение уровня TNF α и IFN γ ($p < 0,05$), IL-4 и sIgA не отличались от показателей контрольной группы.

Таблица 4

Состояние местного иммунитета и уровень цитокинов в носоглоточных смывах у часто болеющих детей с аденоидами I, II, III степени, с индикацией герпесвирусов, (M+m)

Цитокины, пг/мл	Патология глоточной миндалины			Контрольная группа с отсутствием герпесвирусов с аденоидами I степени n=11
	Аденоиды I n=11	Аденоиды II n=14	Аденоиды III n=11	
IL-4	26,2±4,5	42,7±6,9*	48,0±23,5*	28,4±2,7
IL-8	17,0±5,6	17,7±2,3	23,5±7,0	13,3±2,7
IFN γ	24,0±7,0*	10,0±4,6	21,6±6,0*	7,1±2,0
TNF α	4,6±1,6*	4,8±2,1*	1,52±0,5	0,4±0,1
sIgA	37,2±9,6	54,9±13,5*	29,2±9,6	24,1±4,8

Примечание: *- $p < 0,05$ – сопоставление результатов между исследуемыми группами и контрольной группой.

При аденоидах II степени наблюдается активация Th2-хелперного ответа II типа, о чем свидетельствует повышение продукции IL-4 ($p < 0,05$). Одновременно отмечено повышение sIgA ($p < 0,05$) и TNF α ($p < 0,05$) по сравнению со значением здоровых детей.

Мукозальный ответ по продукции цитокинов у часто болеющих детей с III степенью увеличения аденоидов характеризовался активацией Th1-хелперного ответа с увеличением уровня IFN γ 21,6±6,0 пг/мл ($p < 0,05$) и Th2-ответа с возрастанием IL-4 48,0±23,5 пг/мл ($p < 0,05$).

Таким образом, нарастание выраженности клинических проявлений патологии глоточной миндалины у часто болеющих детей и вариант мукозального иммунного ответа с активацией Th1 и Th2 звеньев в иммунитете является характерным типом для формирования ответа на хроническую герпесвирусную EBV и CMV инфекции. Ослабление противовирусного ответа с участием TNF α , уровень которого в мукозальных смывах достоверно снижается при III степени увеличения носоглоточной миндалины, по сравнению с I и II степенью, свидетельствует об истощении макрофагального звена иммунитета.

Оценка цитокин-синтезирующей функции T-лимфоцитов в носоглоточных смывах у детей с патологией глоточной миндалины в зависимости от типа герпесвирусной инфекции и их ассоциаций (CMV, EBV, герпетической mixed – инфекции) выявило значимое повышение уровня TNF α (5,09±1,32 пг/мл) у часто болеющих детей с активным выделением CMV в зеве по сравнению с показателями (TNF α) в смывах детей контрольной группы (0,45±0,13 пг/мл), $p < 0,01$ и отражает повышенную активность макрофагов на внедрение герпесвирусной CMV-инфекции (таблица 5).

Одновременно отмечена тенденция к увеличению уровня IL-4 в носоглоточных смывах по сравнению с показателями контрольной группы, $t=1,73$ ($p > 0,05$), которая определяет дисбаланс иммунного ответа в сторону преимущественно по Th2-типу.

По уровню $IFN\gamma$ и $sIgA$ статистически достоверных различий между показателями исследуемой и контрольной группой не выявлено.

У часто болеющих детей с гипертрофией аденоидов и активной репликацией EBV в зеве достоверно выше уровень провоспалительных цитокинов $IFN\gamma$ $20,59\pm 6,13$ пг/мл ($p<0,05$) и $TNF\alpha$ $6,07\pm 1,65$ пг/мл ($p<0,05$), в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о сдвиге иммунного ответа в пользу Th1 клеточного звена иммунитета.

Таблица 5

Состояние местного иммунитета и уровень цитокинов в носоглоточных смывах у часто болеющих детей с аденоидами, с индикацией DNA герпесвирусов (CMV, EBV, HSV, mixt), (M+m)

Цитокины (пг/мл), $sIgA$ (мг/л)	Дети с гипертрофией глоточной миндалины			Контрольная группа с аденоидами I степени с отсутствием индикации герпесвирусов n=11
	Группа с индикацией CMV инфекции n=15	Группа с индикацией DNA EBV из носоглотки n=13	Группа с индикацией герпетической mixt-инфекции (CMV + EBV) n=11	
IL-4	63,01±19,71	34,89±4,67	25,30±5,42	28,42±2,77
$IFN\gamma$	7,27±4,26	20,59±6,13*	19,60±6,13*	7,15±2,08
$TNF\alpha$	5,09±1,32*	6,07±1,65*	5,44±1,69*	0,45±0,13
$sIgA$	29,7±5,74	39,12±10,6	43,87±11,66	24,19±4,89

Примечание: p^* – сопоставление результатов между исследуемыми группами и контрольной группой.

Активная репликация герпетической mixt-инфекции в зеве у детей с гипертрофией аденоидов сопровождается достоверным нарастанием уровня $IFN\gamma$ $19,60\pm 6,13$ пг/мл и $TNF\alpha$ $5,44\pm 1,69$ пг/мл при сравнении с контрольной группы ($7,15\pm 2,08$ пг/мл; $0,45\pm 0,13$ пг/мл) ($p<0,05$), что отражает преобладание продукции цитокинов, секретируемых Th1-клетками, реализующих клеточный иммунный ответ.

Оценка прогностических значений уровней цитокинов в носоглоточных смывах в риске формирования патологии глоточной миндалины у часто болеющих детей позволила выявить уровни $IFN\gamma$ ниже ($33,39\pm 1,45$ пг/мл) и IL-4 выше ($51,58\pm 1,35$ пг/мл), при которых диагностируется гипертрофия аденоидов II, III степени. Достоверное увеличение коэффициента соотношения про- и противовоспалительных цитокинов $IFN\gamma/IL4$ установлено в группах детей с индикацией герпесвирусов и гипертрофией аденоидов I степени ($0,70\pm 0,08$ пг/мл) ($p<0,01$), II ($0,44\pm 0,09$ пг/мл) и III ($0,97\pm 0,29$ пг/мл) ($p<0,05$) степени, относительно контрольной группы ($0,24\pm 0,02$ пг/мл).

Сравнительное изучение уровня цитокинов в парах «мать-дитя» при хронической ЛОР патологии и индикации герпесвирусных инфекций статистически подтверждено повышением в носоглоточных смывах уровня $TNF\alpha$ у матерей ($8,9\pm 0,7$ пг/мл) ($p<0,01$), $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ у часто болеющих детей

($8,7 \pm 1,0$ пг/мл; $27,2 \pm 6,9$ пг/мл) ($p_{1,2} < 0,05$) в сравнении с контрольной группой ($0,5 \pm 0,1$ пг/мл; $7,2 \pm 2,0$ пг/мл).

Отсутствие профилактических технологий санации носоглотки матерей при хронической ЛОР-патологии приводит не только к колонизации носоглотки детей с развитием аденоидных вегетаций I, II, III степени, но и определяет вариант прогноза характера противовирусного иммунитета, в виде повышения уровня IFN γ , TNF α в мукозальном секрете.

На следующем этапе изучено состояние адаптивного иммунитета, уровня лимфоцитов с фенотипами (CD3, CD4, CD8, CD20, CD16/56) и продукции иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) у часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины и PCR+позитивной герпесвирусной инфекции в зеве (таблица 6).

Отмечено повышение популяции цитотоксических CD8 лимфоцитов ($p < 0,05$) у часто болеющих детей с аденоидами I степени с одновременным увеличением количества В-лимфоцитов и уровня IgM в крови ($p < 0,05$), в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$), что обеспечивает наиболее полноценный противовирусный ответ. В группе детей с аденоидами II степени при активной репликации DNA герпесвирусов наблюдается увеличение содержания НК-клеток ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации механизмов естественного иммунитета при одновременной стимуляции В-лимфоцитов, с приоритетным синтезом IgE ($p < 0,05$), реализующим реактивные механизмы аллергии.

При патологии аденоидов III степени у часто болеющих детей с активной репликации DNA герпесвирусов отмечено повышение содержания CD3, CD8-клеток в популяции Т-лимфоцитов ($p < 0,05$), установлено значительное повышение уровня В-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 6

Показатели иммунофенотипирования лимфоцитов и иммуноглобулинов у часто болеющих детей с аденоидами I, II, III степени и индикацией DNA герпесвирусов в зеве

Показатели x 10 ⁹ /л	Аденоиды I n=10	Аденоиды II n=20	Аденоиды III n=11	Контрольная группа с отсутствием индикации DNA вирусов из ротоглотки (n=11)
CD3	$3,22 \pm 0,2^2$	$3,31 \pm 0,06^2$	$3,83 \pm 0,14^1$	$3,00 \pm 0,4$
CD4	$1,71 \pm 0,14^2$	$1,95 \pm 0,05^2$	$2,3 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,2$
CD8	$2,43 \pm 0,3^{1,2}$	$1,12 \pm 0,02^2$	$1,59 \pm 0,15^1$	$1,15 \pm 0,1$
NK	$0,36 \pm 0,02$	$0,4 \pm 0,01^{1,2}$	$0,36 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,04$
CD20	$0,73 \pm 0,06^1$	$1,01 \pm 0,02^{1,2}$	$0,99 \pm 0,07^1$	$0,4 \pm 0,06$
IgG, ^r /л	$6,9 \pm 0,5^2$	$7,95 \pm 0,02^2$	$3,53 \pm 0,27$	$9,1 \pm 1,7$
IgM, ^r /л	$1,24 \pm 0,09^{1,2}$	$0,89 \pm 0,02^2$	$0,46 \pm 0,04$	$0,76 \pm 0,17$
IgA, ^r /л	$0,57 \pm 0,08^2$	$0,43 \pm 0,01^2$	$0,3 \pm 0,03$	$0,4 \pm 0,14$
IgE, ^{ME} /мл	$9,1 \pm 3,3$	$26,26 \pm 9,5^{1,2}$	$18,2 \pm 4,9^1$	$7,4 \pm 0,08$

Примечание: $p_1 < 0,05$ – достоверность различий показателей в сравнении с контрольной группой; $p_2 < 0,05$ – достоверность различий показателей в сравнении с группой детей с аденоидами III степени.

На следующем этапе изучен уровень лимфоцитов с фенотипами (CD3, CD4, CD8, CD20, CD16/56) и продукции иммуноглобулинов (IgG, IgM, IgA) у часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины с учетом этиологического фактора (таблица 7).

Таблица 7

Показатели иммунофенотипирования лимфоцитов и иммуноглобулинов у детей с аденоидами I, II, III степени с репликативной формой герпесвирусных инфекций (CMV, EBV, mixt).

Показатели x 10 ⁹ /л	Этиология возбудителя в зеве детей			
	CMV инфекция n=17	EBV инфекция n=10	Смешанная инфекция n=11	Контрольная группа с отсутствием индикации DNA вирусов из ротоглотки n=11
CD3	2,93±0,05 ²	4,05±0,14 ¹	3,11±0,19 ²	3,00±0,4
CD4	1,61±0,04 ²	2,58±0,1 ¹	1,69±0,15	2,0±0,2
CD8	6,67±1,35 ^{1,2}	1,42±0,09 ¹	1,04±0,04 ²	1,15±0,1
CD20	0,89±0,02 ^{1,2}	1,04±0,05 ¹	0,87±0,04 ^{1,2}	0,4±0,06
NK	0,34±0,01 ^{1,2}	0,43±0,03 ¹	0,48±0,06 ¹	0,3±0,04
IgG г/л	7,47±0,27 ²	5,9±0,24	8,25±0,66	9,1±1,7
IgM г/л	1,02±0,03 ²	0,57±0,03	1,35±0,09 ¹	0,76±0,17
IgA г/л	0,55±0,02 ²	0,35±0,02	0,38±0,02	0,4±0,14
IgE ^{ME} /мл	4,81±0,33 ^{1,2}	9,20±0,11 ¹	64,67±7,3 ¹	7,4±0,08

Примечание:

p1<0,05 – достоверность различий показателей в сравнении с контрольной группой; p2 <0,05 – достоверность различий показателей в сравнении с группой детей с EBV-инфекцией;

У часто болеющих детей с маркерами CMV- инфекции в клеточном звене иммунитета отмечено значительное увеличение цитотоксических CD8+ цитотоксических лимфоцитов, NK и CD20 (p1<0,05) в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует об активации противовирусного иммунного ответа. Относительно группы сравнения с EBV-инфекцией отмечено снижение уровня CD3, CD4, CD8, CD20 лимфоцитов и NK-клеток (p2<0,05) .

Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов выявило достоверное повышение содержания CD3, CD4, CD8, CD20, NK-лимфоцитов у детей с Эпштейн-Барр вирусной инфекцией по сравнению с контрольной группой (p1<0,05). У детей со смешанной герпесвирусной инфекцией (DNA CMV, EBV) отмечалось увеличение NK –клеток и В-лимфоцитов (p1<0,05). У часто болеющих с индикацией EBV по продукции иммуноглобулинов выявлено достоверное увеличение уровня продукции IgE в сравнении с контрольной группы (p1<0,05); при mixt герпесвирусных ассоциациях (CMV, EBV, HSV) отмечено преимущественное увеличение IgE и IgM (p1<0,05) и снижение IgA и IgG относительно показателей контрольной группы.

Оценка иммунного профиля у часто болеющих детей с индикацией CMV-инфекцией показала активацию компенсаторных механизмов макроорганизма в ответ на инфицирование с увеличением уровня Т-лимфоцитов с фенотипом CD8+, NK и CD20. Увеличение уровня IgE при репликации EBV и mixed герпесвирусной инфекции в зеве у детей с патологией глоточной миндалины может расцениваться как усиление аллергореактивности макроорганизма и дисбаланс в сторону Th2-иммунного ответа.

Изучение корреляционных связей между характером патологии носоглотки матери с обнаружением DNA герпесвирусов с задней стенки глотки и формированием адаптивного иммунитета у детей выявило в группе детей с аденоидами I степени взаимосвязь хронического фарингита у матери и уровнем CD3-лимфоцитов в крови детей ($r=0,7346$, $p<0,05$), индикацией DNA CMV с задней стенки глотки ребенка и уровнем CD8 ($r=0,8660$, $p<0,01$).

У часто болеющих детей с аденоидами II степени отмечена обратная корреляционная связь между выявлением хронического тонзиллита у матерей и содержанием CD8-лимфоцитов, NK-клеток у детей, выделением DNA CMV с задней стенки глотки матерей и CD20-лимфоцитами у детей ($r_1=-0,4641$, $p<0,05$; $r_2=-0,5278$, $p<0,02$; $r_3=-0,6346$, $p<0,05$). Об иммуносупрессивном действии HSV, обнаруженном с задней стенки глотки детей, свидетельствует обратная взаимосвязь HSV с уровнем CD20, CD3, CD4-лимфоцитов ($r=-0,5132$; $r_2=-0,5562$; $r_3=-0,6139$, $p<0,01$).

У детей с аденоидами III степени нарастает степень дезадаптации иммунного ответа, что подтверждается взаимосвязью выделения DNA HSV с задней стенки глотки детей и продукцией IgE и IgG ($r_1=0,4627$, $p<0,001$; $r_2=0,7637$, $p<0,05$), индикацией DNA HSV у матерей и продукцией IgM, IgG, IgE у детей ($r_1=0,4715$, $p<0,05$; $r_2=0,416$, $t=1,94$; $r_3=0,416$, $t=1,94$). При Эпштейн-Барр вирусной инфекции сохраняется активация CD4-лимфоцитов, отмечена прямая взаимосвязь индикации DNA EBV с задней стенки глотки у матерей и содержанием CD4-лимфоцитов ($r=0,3578$, $p<0,05$).

Полученные данные о причинно-следственной роли герпесвирусных инфекций в формировании группы часто болеющих детей явились основанием для пересмотра традиционных подходов к тактике ведения часто болеющих детей с сочетанной ЛОР-патологией.

Исследована динамика клинических симптомов у детей, получивших этиотропную терапию противовирусными препаратами «Ацикловир» ($n=46$), «Виферон» ($n=44$) (рисунок 2). В группе сравнения проводилось местное лечение ($n=37$), заключающееся в промывании полости носоглотки растворами антисептиков, применении назальных деконгестантов и препарата «Проторгол» эндоназально.

У детей, получавших Ацикловир установлено клиническое улучшение состояния ЛОР-здоровья: нормализация носового дыхания у 81,3%, уменьшение жалоб на наличие постоянных выделений из носа у 50% ($p<0,01$), исчезновение ночного храпа у 68% детей ($p<0,001$). При терапии Вифероном носовое дыхание восстановилось у 71,5% ($p<0,05$), сократились выделения у 47,8%, ночной храп исчез у 70,5% детей ($p<0,05$). У пациентов не получавших этиотропную

терапию, регистрировалось сохранение назальной обструкции в 48%, уменьшение жалоб на наличие постоянных выделений из носа у 24,3% ($p < 0,05$).

После курса лечения противовирусными препаратами наблюдалось уменьшение степени гипертрофии лимфоидной ткани аденоидных вегетаций у детей с аденоидами III степени при терапии Ацикловиром (74%) ($p < 0,001$) и Вифероном (79,6%) ($p < 0,001$). Сохранение гипертрофии аденоидов наблюдалось у 48% детей, получавших местное лечение ($p < 0,05$).

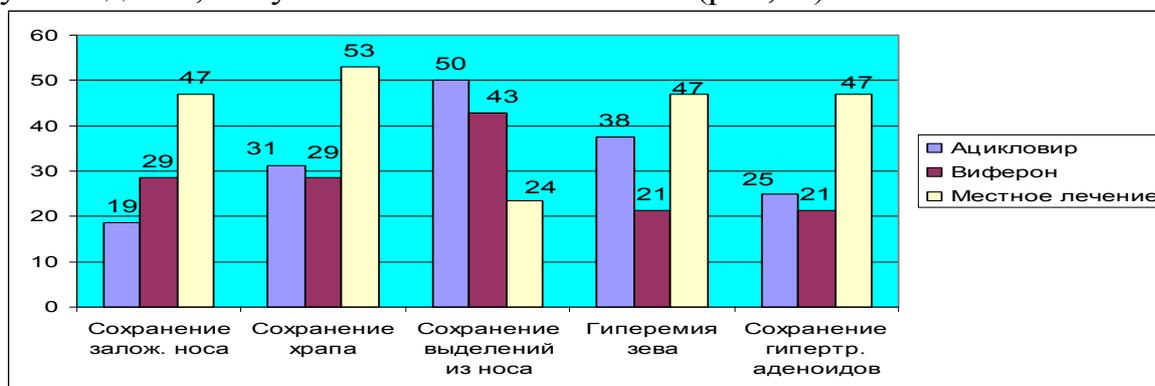


Рисунок 2. Динамика клинических симптомов у детей с аденоидными вегетациями I, II, III степени и индикацией герпесвирусных инфекций и эффективность лечения противовирусными препаратами

Выделение ДНК-герпесвирусов в соскобах с задней стенки глотки методом ПЦР после терапии противовирусными препаратами Виферон и Ацикловир в группе часто болеющих детей с аденоидами I степени сократилось с 34,8% до 17,2%, в группе с аденоидами II степени с 73% до 35,8%, с аденоидами III степени с 75,7% до 36,3%.

После курса этиотропной терапии установлено снижение кратности эпизодов ОРЗ у часто болеющих детей с аденоидными вегетациями I степени с $7,1 \pm 0,2$ до $2,9 \pm 0,1$ ($p < 0,05$), сокращение длительности заболевания с $7,5 \pm 0,32$ до $3,0 \pm 0,3$, сократилось количество курсов антибактериальной терапии ($1,6 \pm 0,1$), в сравнении с группой до проведения лечения противовирусными препаратами - $4,4 \pm 0,3$ ($p < 0,05$). Наблюдалось увеличение периода ремиссии (230,5 дней), в сравнении с группой до проведения лечения противовирусными препаратами (181,7 дней) ($p < 0,05$). После курса этиотропной терапии у часто болеющих детей с аденоидами I степени произошло снижение индекса резистентности с $0,5 \pm 0,06$ до $0,2 \pm 0,01$ ($p < 0,05$).

В группе часто болеющих детей с аденоидами II степени и индикацией герпесвирусов после противовирусной терапии отмечено снижение частоты эпизодов ОРЗ с $9,4 \pm 0,31$ до $3,8 \pm 0,3$ ($p < 0,05$); сокращение длительности заболевания с $8,5 \pm 0,34$ до $3,8 \pm 0,3$, увеличение периода ремиссии (245,7 дней) в сравнении с периодом до лечения - 160,7 дней ($p < 0,05$). Сократилось количество курсов антибактериальной терапии, назначаемой детям с $5,6 \pm 0,2$ дней до $2,6 \pm 0,1$ ($p < 0,05$). После завершения курса противовирусной терапии показатель индекса резистентности снизился с $0,8 \pm 0,04$ до интервала $0,3 \pm 0,01$, характерного для детей, не относящихся к категории часто болеющих ($p < 0,05$).

У часто болеющих детей с аденоидными вегетациями III степени отмечено снижение числа ОРЗ с $9,4 \pm 0,31$ до $3,9 \pm 0,3$ ($p < 0,05$), сокращение длительности

заболевания с $8,5 \pm 0,34$ до $3,0 \pm 0,3$ дней, в связи с чем у данного контингента детей реже назначались курсы антибактериальной терапии ($3,2 \pm 0,2$), в сравнении с группой детей до проведения лечения ($6,2 \pm 0,24$) ($p < 0,05$). После курса противовирусной терапии у часто болеющих детей наблюдалось увеличение периода ремиссии (243,5 дней), в сравнении с группой до проведения лечения противовирусными препаратами (150,2 дней) ($p < 0,05$).

У часто болеющих детей с аденоидами III степени произошло снижение индекса резистентности с $0,8 \pm 0,04$ до $0,3 \pm 0,02$ ($p < 0,05$).

Таким образом, внедрение молекулярно-генетических методов исследования позволило уточнить характер иммунного ответа, показать значимость герпесвирусных инфекций, обосновать и доказать эффективность лечебно-оздоровительных технологий в группах часто болеющих детей с хронической цитомегаловирусной и Эпштейн-Барр-вирусной инфекцией. Доказана клиническая и экономическая эффективность применения противовирусного лечения у часто болеющих детей с патологией глоточной миндалины, ассоциированной с герпесвирусными инфекциями.

ВЫВОДЫ

1. Наличие урогенитальной инфекции у женщин во время беременности увеличивает риск формирования у потомства аденоидов II степени в 2 раза (50%) относительно детей с аденоидами I степени и проявляется отягощенным акушерским анамнезом с высокой частотой токсикоза (70% и 75,8%), гестоза (63,3% и 75,8%) и хронической фетоплацентарной недостаточностью, которые регистрируются в 16,6 раз чаще при гипертрофии глоточной миндалины II степени и в 14 раз при III степени (50% и 42,2%), ($p_1, 2 < 0,05$) соответственно. Установлена высокая частота индикации DNA герпесвирусов (85,8%) у матерей с ЛОР-патологией, дети которых в раннем возрасте сформировали гипертрофию аденоидов I, II, III степени.
2. Установлено наличие хронической ЛОР патологии у 70% матерей в виде хронического компенсированного тонзиллита, хронического гипертрофического фарингита и хронического риносинусита. При хроническом воспалительном процессе небных миндалин обнаружена индикация DNA герпесвирусных инфекций в 88%, которые коррелируют с выделением DNA (CMV и EBV) из носоглотки детей с аденоидами I степени ($r_1 = 0,54$; $p < 0,01$; $r_2 = 0,8$; $p < 0,00003$), хронический риносинусит с аденоидами II степени у детей с mixed-герпесвирусной инфекцией (CMV и EBV) ($r = 0,27$; $p < 0,017$).
3. У часто болеющих детей доказана значимость типов DNA герпесвирусов в развитии гипертрофии глоточной миндалины, частота обнаружения которых при II достигает 73,2%, при III степени - 75,7%. У детей с аденоидами III степени увеличивается выделение DNA EBV-инфекции (45,5%).
4. Прогностическими значениями формирования патологии глоточной миндалины у часто болеющих детей являются уровни IFN γ менее

($33,39 \pm 1,45$ пг/мл) и IL-4 более ($51,58 \pm 1,35$ пг/мл), при которых у детей диагностируется гипертрофия аденоидов II, III степени. Мукозальный ответ характеризуется преобладанием Th2-хелперного ответа с повышением IL-4 при аденоидах II степени и активацией Th1 и Th2 ответа с гиперпродукцией IL-4 и IFN γ и снижением TNF α при гипертрофии III степени.

5. Установлена взаимосвязь индикации DNA CMV, EBV, HSV из носоглотки часто болеющих детей с формированием сдвигов в адаптивном иммунитете с активацией NK-клеток и CD20-лимфоцитов при аденоидах II степени и дезадаптацией иммунитета с активацией клеточного (CD3, CD4, CD8) и гуморального ответа (CD20) при аденоидах III степени.
6. Раннее назначение противовирусной терапии Ацикловиром, Вифероном сопровождается восстановлением носового дыхания, исчезновением ночного храпа, уменьшением гипертрофии лимфоидной ткани аденоидных вегетаций (75%, 78,6%, $p < 0,001$), сокращением длительности заболевания у детей: при аденоидах I степени – $3,0 \pm 0,3$; II степени – $3,4 \pm 0,4$; III степени – $3,0 \pm 0,3$, увеличением периода ремиссии: при аденоидах I степени – 230,5; II степени – 245,7; III степени – 243,5 дней, нормализацией индекса резистентности: при аденоидах I степени – $0,2 \pm 0,01$; II степени – $0,3 \pm 0,01$; III степени – $0,3 \pm 0,02$ ($p_{1,2,3} < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные о состоянии здоровья часто болеющих детей с гипертрофией аденоидов и индикацией DNA герпесвирусных инфекций являются основанием для пересмотра подходов с целью предупреждения развития патологии глоточной миндалины.
2. Дети с дисбактериозом кишечника, кожным аллергическим симптомом, ранним дебютом ОРВИ, нарушением носового дыхания в раннем неонатальном периоде должны быть включены в «группу риска» для уточнения и расшифровки герпесвирусных инфекций.
3. Для верификации и ранней диагностики CMV, EBV, HSV, mixed-герпетической инфекции необходимо углубленное обследование в системе «мать-дитя» с применением молекулярно-генетических методов с исследованием индикации DNA герпесвирусов в соскобах из носоглотки и изучением продукции цитокинов в смывах из носоглотки у матери и ребенка.
4. Определение уровня продукции IL-4, IFN γ , TNF α и sIgA в смывах из носоглотки детей с аденоидными вегетациями позволяет прогнозировать риск развития гипертрофии глоточной миндалины.
5. Определение уровня IL-4 и IFN γ в носоглоточных смывах является дополнительным прогностическим критерием в формировании группы детей с патологией глоточной миндалины.
6. Детям с гипертрофией аденоидов II и III степени с индикацией герпесвирусов из носоглотки показана консультация врача клинического-иммунолога для решения вопроса целесообразности иммунологического

обследования, подключении противовирусной терапии в системе «мать-дитя», с последующим наблюдением ЛОР-врачом в амбулаторно-поликлиническом звене.

7. Назначение противовирусной терапии восстанавливает носовое дыхание, способствуя сокращению объема лимфоидной ткани глоточной миндалины, снижению длительности периода болезни у детей и курсов антибиотикотерапии, восстановлению резистентности к острым респираторным инфекциям: при аденоидах I степени индекс резистентности – $0,2 \pm 0,01$; при II степени - $0,3 \pm 0,01$; при III степени - $0,3 \pm 0,02$.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Коробкина А. Г. Значение оппортунистических инфекций в формировании патологии органов дыхания [Текст] / Козлова С. Н., Савельева Е. В., Коробкина А. Г.: Материалы юбилейной научно-практической конференции.- Ростов на Дону.- 2006.- С. 59-64.
2. Коробкина А. Г. Аденоиды как проблема хронической EBV и CMV инфекций и состояние мукозального иммунитета в системе «мать-дитя» [Текст] / Козлова С. Н., Коробкина А. Г.// Российская оториноларингология «100 лет Российской оториноларингологии: достижения и перспективы».- Москва.- 2008.- №2.- С.59-64.
3. Коробкина А. Г. Определение уровня цитокинов (IL4, IL8, IFN γ , TNFa) и sIgA в носоглоточных смывах и состояние местного иммунитета у детей с аденоидами [Текст] / Козлова С. Н., Савельева Е. В., Коробкина А. Г.// Российский иммунологический журнал.- Москва.- 2008.- Т2.- С. 113.
4. Коробкина А. Г. Адаптивный иммунитет и содержание цитокинов в сыворотке крови детей раннего возраста с сочетанной ЛОР патологией, ассоциированной с оппортунистическими инфекциями [Текст] / Козлова С. Н., Савельева Е. В., Коробкина А. Г.// Российская оториноларингология «100 лет Российской оториноларингологии: достижения и перспективы».- Москва.- 2008.- №2.- С. 64-69.
5. Коробкина А. Г. Изучение состояния адаптивного иммунитета у детей с аденоидными вегетациями и маркерами CMV, EBV, HSV в носоглотке в системе «мать-дитя» [Текст] / Козлова С. Н., Коробкина А. Г.// Российский иммунологический журнал.- Москва.- 2008.- Т2.- С.329.
6. Коробкина А.Г. Способ лечения гипертрофии аденоидов у детей / Патент №2366424 от 10.09.2009, приоритет от 01.08.2007 / Козлова С. Н., Коробкина А. Г/ Бюллетень «Изобретения и полезные модели».-2009.- №25.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CMV – цитомегаловирусная инфекция.

HSV – герпетическая инфекция.

EBV – Эпштейн – Барр – вирусная инфекция.

ПЦР (PCR) – полимеразно-цепная реакция.

IL – интерлейкин.

TNF α – опухоленекротический фактор альфа.

IFN γ – интерферон гамма.

sIgA – секреторный иммуноглобулин А.

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения.

ОРЗ – острое респираторное заболевание.

МАЛТ – (mukosa associated lymphoid tissue) – «лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками».

Коробкина Анна Геннадьевна

**СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО И АДАПТИВНОГО
ИММУНИТЕТА У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ С
МАРКЕРАМИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ЭПШТЕЙН –
БАРР – ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ
ЗНАЧИМОСТЬ**

14.00.09. – Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГОУ ВПО УГМА Росздрава от 22.10.2009