

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 616-058.86:616.9-058.86

ГОЛЮЧЕНКО
Ольга Анатольевна

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭНДОКРИННОЙ, ИММУННОЙ И
ЛИПИДТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМ У ДЕТЕЙ, ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ
ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14 01 09 - инфекционные болезни

Минск, 2017

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: **Осочук Сергей Стефанович,**
доктор медицинских наук, доцент, заведующий научно-исследовательской лабораторией учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Доценко Марина Леонидовна,**
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Калинин Андрей Леонидович,
доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита состоится 16 февраля 2017 года в 14⁰⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; телефон (017) 272 55 98, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «14» января 2017 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

А.М. Дронина

ВВЕДЕНИЕ

В структуре заболеваемости детского населения инфекционными заболеваниями ведущая роль принадлежит острым респираторным инфекциям (ОРИ). От 1,5 до 75% детей отличаются от сверстников более высокой частотой ОРИ и обеспечивают наиболее значимые финансовые потери государства. Таких детей называют часто болеющими детьми (ЧБД) и относят в отдельную группу диспансерного наблюдения по факту 4-5-ти и более кратного заболевания ОРИ в течение года в зависимости от возраста [Альбицкий В.Ю. и Баранов А.А., 1986]. Более эффективным является метод отнесения таких детей к ЧБД, основанный на особенностях взаимодействия возбудителей ОРИ и защитных систем организма, до заболевания частыми ОРИ. Однако эти особенности не определены.

Таким образом, одной из наиболее актуальных задач детской инфектологии является изучение механизмов взаимодействия возбудителей ОРИ и защитных систем организма ребенка. Знание таких механизмов позволит разработать объективные критерии раннего отнесения детей к группе наблюдения «ЧБД», а так же обосновать направления профилактических мероприятий с учетом индивидуальной предрасположенности ЧБД к ОРИ.

Учитывая то, что ранее проведенные работы не выявили общих для всех ЧБД закономерностей изменения иммунной системы [Земсков А.М., 1994; Барычева Л.Ю., 2010 и др.], приоритетных возбудителей ОРИ [Беляева Л.М.; 2006; Василевский И.В., 2008 и др.], причины повышенной восприимчивости могут определяться особенностями метаболического и гормонального профилей. Наиболее предпочтительными в этом отношении выглядят липидтранспортная система (ЛТС), система продукции и действия кортизола и тиреоидных гормонов, способных оказать значительное влияние на состояние системы иммунитета [Вахитов Х.М., 2004; Кокорева С.П., 2008].

В связи с вышесказанным, целью работы явилась разработка объективных клинико-лабораторных критериев раннего включения детей дошкольного возраста в группу диспансерного наблюдения «ЧБД» на основе особенностей функционирования липидтранспортной, эндокринной и иммунной систем.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» по заданию 1.2.80: «Установить особенности функционирования липидтранспортной системы крови у детей, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями и у взрослых с пневмониями различного происхождения с целью разработки новых критериев

поликлинического мониторинга и патогенетически обоснованной фармакологической коррекции этих состояний» (№ гос. регистрации 20143426). Диссертационная работа соответствует приоритетному направлению фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 апреля 2010 года № 585) «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии, клеточные и молекулярно-биологические технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения».

Цель и задачи исследования

Цель исследования: установить патогенетические особенности эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем, определяющие повышенную восприимчивость детей к острым респираторным инфекциям, и на их основе разработать объективный метод отнесения в группу диспансерного наблюдения «часто болеющие дети».

Задачи исследования:

1. Установить отличительные особенности содержания кортизола крови и его рецепторов в лейкоцитах крови ЧБД и эпизодически болеющих детей (ЭБД) в интерморбидном периоде, как факторов предрасположенности к частым респираторным инфекциям.

2. Определить спектр изменений основных показателей ЛТС крови (общий холестерол, холестерол липопротеинов низкой, очень низкой и высокой плотности, триглицериды, содержание апо-В и апо-А, фосфолипидные классы липопротеинов высокой плотности, спектра жирных кислот нативных липопротеиновых комплексов крови), метаболически связанных с уровнем глюкокортикоидов, в интерморбидном периоде у ЧБД.

3. Определить сдвиги показателей клеточного (CD4, CD8, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) и гуморального (IgA, IgM, IgG) иммунитета, детерминирующих восприимчивость к возбудителям ОРИ у детей группы ЧБД в интерморбидном периоде в их взаимосвязи с количеством кортизола крови.

4. На основе выявленных клинико-лабораторных отличий ЧБД и ЭБД разработать объективный метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «ЧБД».

5. Установить отличительные особенности изменений клинико-лабораторных показателей эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем при ОРИ с разным уровнем поражения дыхательных путей у ЧБД и ЭБД.

Объект исследования: 268 детей, часто и эпизодически болеющих ОРИ в интерморбидном периоде, а также в период заболевания ОРИ.

Предмет исследования: показатели эндокринной, липидтранспортной, иммунной систем у детей группы диспансерного наблюдения «ЧБД» в

состоянии клинического здоровья и ОРИ в сравнении с эпизодически болеющими детьми.

Научная новизна

Впервые определены молекулярно-биологические особенности показателей эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем лежащие в основе предрасположенности детей к частым респираторным инфекциям. Установлено, что содержание кортизола крови у часто болеющих детей в интерморбидном периоде выше, чем у эпизодически болеющих детей (ЭБД). Впервые определено, что группа часто болеющих детей по содержанию кортизола крови неоднородна и разделена на 2 кластера: с повышенным содержанием кортизола и не отличающимся от нормальных значений. Установлено, что количество рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови ЧБД ниже, а соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу выше, чем у ЭБД. Выявлено, что изменения ЛТС крови в группе ЧБД сходны с изменениями, характерными для гиперкортизолемии. Разработана модель разделения детей дошкольного возраста на группы ЧБД и ЭБД на основании определения содержания кортизола крови, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), а также разработана прогностическая модель определения индивидуального риска развития ОРИ на основании содержания ядерных рецепторов к кортизолу. Разработаны и внедрены в клиническую практику «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей».

Впервые определены особенности реакции показателей ЛТС, системы иммунитета (СИ) и эндокринной системы (ЭС) у часто и эпизодически болеющих детей при ОРИ с поражением верхних и нижних отделов респираторного тракта, характеризующих выраженность воспалительного процесса.

Положения, выносимые на защиту

1. В интерморбидном периоде дети, часто болеющие ОРИ, имеют сдвиги клинико-лабораторных показателей эндокринной системы, характеризующиеся повышенным содержанием кортизола крови, сниженным содержанием его рецепторов в лейкоцитах крови, а так же более высоким соотношением кортизол/рецепторы, сопровождающиеся значительными изменениями показателей ЛТС и СИ. Выявленные изменения свидетельствуют о ключевой роли кортизола и его рецепторов в повышенной восприимчивости ЧБД к ОРИ и позволяют объяснить отсутствие единых изменений ИС у ЧБД.

2. Значения показателей содержания кортизола крови $>481,1$ нмоль/л, ХС ЛПВП $< 1,3$ ммоль/л, ХС ЛПНП $>3,2$ ммоль/л являются клинико-лабораторными критериями отнесения детей к группе ЧБД с чувствительностью 87,5% и специфичностью 73,3%, в то время как

существующие методики формирования группы ЧБД, основанные на частоте заболевания ОРИ, не позволяют проводить раннее отнесение к группе диспансерного наблюдения и осуществлять объективный контроль эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Показатели содержания кортизола крови и соотношение кортизол/рецепторы являются критериями индивидуального риска развития ОРИ у детей с чувствительностью 83,3% и специфичностью 91,7%.

3. ОРИ с различным уровнем поражения респираторного тракта снижают у ЧБД концентрацию кортизола крови по сравнению с интерморбидным периодом. ЭБД не реагируют на ОРИ изменением содержания кортизола, однако его содержание у ЭБД выше, чем у ЧБД при развитии поражения нижних дыхательных путей. Реакция ЛТС у ЧБД при поражении нижних отделов респираторного тракта сходна с таковой при адреналэктомии и характеризуется снижением ХС ЛПНП и ростом холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и триглицеридов (ТГ), что свидетельствует о нарушении регуляции активности воспалительного процесса с развитием воспаления более высокой интенсивности. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли кортизола в патогенезе ОРИ у ЧБД.

Личный вклад соискателя ученой степени

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории и кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Постановка проблемы, выбор темы диссертации, формулировка цели и задач исследования, методологических подходов, положений выносимых на защиту проведены совместно с научным руководителем. Планирование и выполнение основных этапов исследования проведены автором лично. Автором проведен патентно-информативный поиск, проанализировано более 400 литературных источников отечественных и зарубежных авторов [2] (вклад соискателя 90%). Основные научные результаты, представленные в диссертации, получены автором лично и изложены в инструкциях по применению и статьях (доля диссертанта в совместных публикациях – 75%) [1-20]. По результатам выполненных исследований определены особенности функционирования СИ, ЛТС, ЭС у детей группы «ЧБД» в интерморбидном периоде, при ОРИ и изложены в статьях [6, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17] (вклад соискателя 80%). Описаны особенности обеспеченности полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), состава липопротеиновых комплексов (ЛПК) у ЧБД в интерморбидном периоде [5, 12] (вклад 70%). Изучен вклад наиболее распространенных респираторных вирусов в этиологическую структуру ОРИ у ЧБД [1, 18] (вклад 95%). Содержание кортизола крови и кортизолных рецепторов в клетках ИС у ЧБД в интерморбидном периоде описано в статьях [3, 11, 13] (вклад 75%). Определены и обоснованы клиничко-лабораторные

критерии отнесения детей дошкольного возраста к группе «ЧБД» [4, 7, 19] (вклад 75%). Выявленные отличия гормонального и метаболического профилей ЧБД использованы для разработки инструкций по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» № 123-1114 и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей» № 140-1115 [20]. Формирование базы данных, её статистическая обработка, обобщение результатов, формулировка выводов и рекомендаций, оформление диссертационной работы выполнены соискателем лично.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения диссертации обсуждены на заседаниях кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»; проблемной комиссии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Инфекция»; 65-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2010), 66-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2011); 70-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2015); 66-й итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (2014); 14 международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука 21 века», посвященной 80-летию образования ВГМУ (2014). Результаты работы представлены на научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 2009) и на 16 международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Париж, 2011).

Разработаны и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкции по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей». Имеются акты внедрения результатов работы в учреждении здравоохранения «Витебский областной детский клинический центр» и учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации

В соавторстве и единолично опубликовано 18 печатных работ общим объёмом 5,46 авторских листа, в том числе - 8 статей в рецензируемых журналах общим объёмом 3,81 авторских листа (в том числе 1 в Российской Федерации), 10 публикаций в сборниках тезисов, научных трудов и материалах конференций общим объёмом 1,65 авторских листа (в том числе

международного конгресса). Подготовлены и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь 2 инструкции по применению.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего 87 русскоязычных и 57 иностранных источников, списка работ соискателя, 7 приложений. Работа изложена на 121 странице компьютерного текста. Объем, занимаемый 27 таблицами - 12 страниц, 20 рисунками - 7 страниц, приложениями - 14 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика пациентов и методы исследования

Работа основана на результатах клинических и лабораторных исследований детей в возрасте 3-11 лет, находившихся на диспансерном наблюдении врачей педиатров и иммунологов детских поликлиник г. Витебска, г. Пинска, а также, на стационарном лечении по поводу различных клинических форм ОРИ, в г.г. Витебск, Орша, Пинск за период 2008-2015гг.

Сформировано 6 экспериментальных групп: 1) ЧБД в интерморбидный период (120 детей); 2) ЭБД в интерморбидный период (38 детей); 3) ЧБД в остром периоде острой респираторной инфекции - 56 детей; 4) ЭБД в остром периоде острой респираторной инфекции - 54 ребенка; 5) ЧБД, ОРИ которых протекали с поражением нижних дыхательных путей - 38 детей (в том числе 11 осложненных пневмонией); 6) ЭБД, ОРИ которых протекали с поражением нижних дыхательных путей - 30 детей (в том числе 10 осложненных пневмонией). Наличие хронических заболеваний являлось критерием исключения из исследования.

В интерморбидном периоде у ЧБД и у ЭБД кровь забирали натощак с 7.30 до 8.30, в гепаринизированные пробирки не менее чем через 2 недели после перенесенной ОРИ. Отсутствие воспалительного процесса подтверждали исследованием показателей периферической крови. Кровь освобождали от форменных элементов центрифугированием в центрифуге РС6 при 3000 оборотах в минуту. Плазму замораживали до обработки при -60°C в морозильной камере Forma (США). Исследование СИ и количества рецепторов к кортизолу проводили в день отбора крови. У ЧБД и ЭБД при ОРИ, кровь забиралась в гепаринизированные пробирки на 2 - 3 день заболевания. Получение и хранение плазмы проводилось аналогично группе интерморбидного периода.

Определение специфических иммуноглобулинов крови к наиболее распространенным возбудителям респираторных инфекций проводилось наборами «Pneumovirus ELISA IgG», Vircell (Испания) на ИФА-анализаторе

«Витязь» Ф 300 ТП (Беларусь). Выявлено, что у 100% обследованных детей есть IgG к респираторно-синцитиальному вирусу и вирусу гриппа типа А, что соответствует данным об их вкладе в структуру детских ОРИ [Орлова С.В., 2009]. IgG к вирусу гриппа типа В выявлены у 61,5% детей, к вирусу парагриппа 3 – у 53,8%. Несколько реже определялись IgG к парагриппу 1 и 2. Результаты исследования, сопоставимы с данными многолетнего эпидемиологического наблюдения [Замахина Е.В., 2009], что указывает на однородность экспериментальных групп по этиологической структуре ОРИ.

В 1 и 2 клинических группах в плазме крови определяли содержание кортизола, общего холестерина (ОХС), ХС ЛПВП, ТГ, ХС ЛПОНП, ХС ЛПНП, содержание апо-В и апо-А, фосфолипидные классы ЛПВП (лизофосфатиды (ЛФ), сфингомиелины (СФМ), фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилэтаноламины (ФЭА) и полиглицерофосфатиды (ПГФ)), содержание Ig G, М, А. Определяли содержание ОХС, ТГ, белка, ПНЖК в нативных ЛПК крови. Исследовали содержание CD3+, CD4+, CD8+, фагоцитарную активность нейтрофилов по фагоцитарному числу (ФЧ) и фагоцитарному индексу (ФИ). Определяли содержание рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови. В 3 - 6 клинических группах в плазме крови определяли: содержание кортизола, Т3, Т4, ОХС, ХС ЛПВП, ТГ, ХС ЛПОНП и ХС ЛПНП, количество иммуноглобулинов G, М, А.

Содержание кортизола, Т3, Т4 в крови определяли радиоиммунными наборами УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии» НАН Беларуси. Содержание кортизола при повторном обследовании в группах 1 и 2, иммуноглобулинов G, М, А определяли ИФА наборами ОАО «Вектор-бест» (Российская Федерация) на анализаторе Ф300 ТП (РУПП «Витязь», Беларусь). Иммунологический статус исследовали в реакции розеткообразования с эритроцитами барана: определяли Т-лимфоциты общие (Т об), активные (Такт), хелперы (Тх), супрессоры (Тс). Рассчитывали соотношение Такт/Тоб. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по поглощению зимозана и выражали фагоцитарным индексом (ФИ) и фагоцитарным числом (ФЧ). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) определялся как соотношение Тх/Тс. CD3+, CD4+, CD8+ определяли с помощью проточной цитометрии на проточном цитометре Beckman Coulter Cytomic FC 500 (США). Концентрацию ОХС, ХС ЛПВП и ТГ крови определяли с использованием наборов фирмы Cormay-Diana (СП Беларусь-Польша). Содержание ХС ЛПОНП рассчитывали по В. Rifling. Содержание ХС ЛПНП рассчитывали по разнице концентрации ОХС и суммы ХС ЛПВП и ХС ЛПОНП. Содержание апо-В и апо-А оценивали турбидиметрически коммерческими наборами «Dialab» (Польша). Фосфолипидные классы ЛПВП, полученных после осаждения апо-В содержащих ЛПК (ЛФ, СФМ, ФХ, ФЭА и ПГФ), определяли методом тонкослойной хроматографии [Кейтс М., 1975] и выражали в %. Удельное процентное содержание ЛФ рассчитывали по формуле

(%ЛФ/[апо-А])*100. Нативные ЛПК (ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП) выделяли на ультрацентрифуге «OptimaLE 80K» Beckman (США) с использованием ротора 50.4Ti при 40000 оборотах в минуту [Lindgren F.T., 1975]. В нативных ЛПК определяли количество белка по Лоури. Содержание ОХС, ХС ЛПВП и ТГ определяли аналогично плазме крови. Экстракцию фосфолипидов проводили смесью хлороформ/метанол (2:1 по объему) с последующим разделением методом тонкослойной хроматографии [Кейтс М., 1975]. Идентификацию классов фосфолипидов проводили по Rf стандартных образцов (Sigma). Количество общих фосфолипидов (ОФЛ) определяли по неорганическому фосфату [Покровский А.А., 1969]. Спектр жирных кислот нативных ЛПОНП определяли на газовом хроматографе ThermoFisherScientific (США) по площади их пиков и времени удержания метиловых эфиров стандартов жирных кислот (Sigma). Количество рецепторов к кортизолу в суспензии лейкоцитов определяли на проточном цитометре CytomicsFC 500 с использованием моноклональных антител SI GR-45.25 (тест-система «Биоскан-М1» «ОДО научно-исследовательское коллективное предприятие Ресан», г. Витебск).

Статистическую обработку данных производили с помощью программы STATISTICA 10RUS, лиц. № sta999K34156W, принадлежит учреждению образования «Витебский государственный медицинский университет». Были использованы следующие методы: анализ частотных гистограмм, описательная статистика, расчет коэффициента корреляции Пирсона, Спирмена, непараметрического анализа по Манну-Уитни для независимых групп и Вилкоксона для зависимых данных, t-критерий Стьюдента, методы кластерного, дисперсионного и дискриминантного анализа. Для выбора метода анализа проводили оценку соответствия вида распределения признака закону нормального распределения (с использованием критерия Шапиро-Уилка) и равенства дисперсий (с использованием F-критерия).

Результаты собственных исследований

Основные показатели содержания кортизола крови и системы иммунитета у ЧБД в интерморбидный период. Установлено, что в группе ЧБД в интерморбидный период содержание кортизола было больше на 19,5%, чем в группе ЭБД ($518,7 \pm 125,6$ и $434 \pm 102,9$ нмоль/л соответственно, $p=0,035$).

Оценка показателей ИС показала, что у ЧБД достоверно снижены ФИ и ФЧ ($p<0,0001$), увеличено отношение CD4/CD8 ($p=0,028$), IgG, IgM и IgA, что может быть обусловлено повышенным содержанием кортизола [Пыцкий В.И., 1984; Новиков Д.К., 2006; Grason J., 1981]. Наличие зависимости ИС от кортизола подтверждается отличиями корреляционных взаимосвязей ряда показателей ИС и кортизола у ЧБД и ЭБД. У ЭБД установлена средней силы статистически значимая связь кортизола с отношением CD4/CD8 (при содержании кортизола в интервале 280-560 нмоль/л имеется четкая линейная прямая зависимость с высокой степенью достоверности – $r=0,6138$, $p=0,026$), а

также сильные высоко значимые прямые связи Ig G-Ig A ($r=0,7904$, $p=0,002$) и Ig G-Ig M ($r=0,6271$, $p=0,029$). Здесь же наблюдается средней силы близкая к значимой прямая связь Ig A и Ig M ($r=0,5526$, $p=0,062$). У ЧБД исчезает взаимосвязь CD4/CD8-кортизол. При возрастании количества кортизола в интервале 300-700 нмоль/л не наблюдается «отклика» CD4/CD8.

Основные показатели липидтранспортной системы крови часто болеющих детей в интерморбидном периоде. Результаты исследования ЛТС крови ЧБД и ЭБД, представлены в таблице 1. У ЧБД отмечено повышенное содержание ОХС за счет ХС ЛПНП и сниженное содержание ХС ЛПВП ($p=0,00055$, $0,00004$, $0,047$ соответственно), что характерно для увеличения содержания кортизола [Whitworth J.A., 2005 и др.].

Таблица 1. - Показатели липидтранспортной системы у ЭБД и ЧБД ($p<0,05$).

	ЭБД (n=44), M±σ	ЧБД (n=74), M±σ
ОХС (ммоль/л)	4,2±0,81	5,07±0,96
ХСЛПВП (ммоль/л)	1,44±0,3	1,26±0,3
ХСЛПНП (ммоль/л)	2,38±0,77	3,38±0,9
Апо-В (мг/дл)	95,15±22,25	118,8±19,8
Апо-А (мг/дл)	179±28,4	227±35,7
%ЛФ/апоА*100	9,7± 2,4	5,7± 1,9

Повышенная концентрация апо-А и апо-В у ЧБД ($p=0,0019$, $0,015$ соответственно) также согласуется с эффектами кортизола [Martin-Sanz P, 1990]. Высокое содержание апо-А потенцирует действие кортизола [Панин Л.Е., 1992], что могло быть причиной указанных ранее изменений корреляционных связей. Процентное содержание ЛФ в ЛПВП в пересчете на апо-А у ЧБД было статистически значимо ниже ($p<0,05$), чем в группе ЭБД, что так же согласуется со способностью кортизола ингибировать фосфолипазу A_2 .

Оценка состава нативных ЛПОНП показала, что в группе ЧБД содержание ТГ было ниже, чем у ЭБД ($p=0,029$), при этом содержание белка превалировало в группе ЭБД ($p=0,038$). Учитывая способность белков ЛПОНП активировать липолитические ферменты плазмы, выявленные отличия могут обуславливаться снижением активности продукции ТГ ЛПОНП в печени ЧБД и, как следствие, приводить к нарушению поставки пальмитиновой кислоты в легкие, нарушению продукции основного фосфолипида сурфактанта легких дипальмитоилфосфатидилхолина и, тем самым, снижать резистентность к ОРИ.

В нативных ЛПНП ЧБД содержание белка и ТГ были ниже, чем у ЭБД ($p=0,032$ и $0,004$ соответственно), что может изменять захват ЛПНП и модифицировать финальный этап транспорта липидов.

Спектр жирных кислот нативных липопротеиновых комплексов крови ЧБД. В ЛПОНП у ЧБД по сравнению с ЭБД статистически значимо снижено процентное содержание пальмитиновой кислоты (C16:0) ($p=0,001$) и увеличено процентное содержание олеиновой кислоты (C18:1) ($p=0,035$), что

привело к достоверным изменениям в соотношении С16/Σ(МНЖК и ПНЖК) и С16/С18:1 ($p=0,0015$ и $0,002$ соответственно). Такие отличия подтверждают предположение о снижении активности синтеза ТГ ЛПОНП в печени, возможности снижения продукции дипальмитоилфосфатидилхолинов и повышения восприимчивости к ОРИ.

Корреляционный анализ у ЧБД выявил зависимости, характерные для активации синтеза провоспалительной [Wang X., 2012] мидовой (С20:3n9) кислоты (прямую зависимость между С16:0 и эйкозатриеновой кислотой (С20:3) ($r=0,726$) и обратные зависимости между С16:0 и С18:1 ($r=-0,927$), С18:1, линолевой (С18:2) и линоленовой (С18:3) кислотами ($r=-0,754$ и $0,900$ соответственно). В группе ЭБД отмечены иные зависимости. Содержание С20:3 отрицательно коррелировало с количеством ХС ЛПОНП ($r=-0,691$), что может быть связано с противовоспалительной активностью дигомо-γ-линоленовой кислоты (С20:3n6), и возможным её комбинированным действием с другими ПНЖК на активность ОМГ-редуктазы [Undurti N., 2008]. Учитывая способность ω3 и ω6 ПНЖК тормозить синтез ПНЖК ω9 ряда [Мари Р., 1993], выявленные обратные связи между С16:0 и С18:3 ($r=-0,684$), С18:1 и С18:2 ($r=-0,733$), С18:1 и С18:3 ($r=-0,733$), а так же прямая зависимость между С18:2 и С18:3 ($r=0,757$) свидетельствует о сохранении метаболических связей между эссенциальными ПНЖК ω3 и ω6 ряда и синтезирующимися эндогенно ПНЖК ω9 ряда у ЭБД.

Лабораторные маркеры отнесения к группе диспансерного наблюдения «ЧБД». Поиск наиболее значимых метаболических маркеров ЧБД проводился в несколько этапов. На первом этапе сравнивались средние значения параметров и их стандартные ошибки у ЧБД и ЭБД. Статистически значимые отличия имели показатели ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, а также кортизола. Учитывая вариабельность изученных показателей, проведен кластерный анализ по методу Варда с Манхэттенской метрикой [Боровиков В.П., 2001], выявивший по три кластера в обеих группах. Для выбора наиболее информативных и взаимодополняющих параметров на следующем этапе проведен дискриминантный анализ, позволивший, классифицировать с высокой степенью надежности 82,1% исследуемых объектов (статистическая ошибка расчетной модели составила 0,007 при F-критерии 4,7371). В модель вошли ХС ЛПНП, ХС ЛПВП и кортизол (таблица 2).

Классификационная функция при этом имела вид:

$$ИП_{ЧБД} = 4,0356 * ХСЛПНП + 15,0623 * ХСЛПВП + 0,0247 * кортизол - 23,5522;$$

$$R^2 = 0,88$$

$$ИП_{ЭБД} = 3,4036 * ХСЛПНП + 17,4452 * ХСЛПВП + 0,0195 * кортизол - 22,6992;$$

$$R^2 = 0,73$$

где $ИП_{ЧБД}$ и $ИП_{ЭБД}$ – интегральные показатели для исследуемых групп.

Таблица 2. - Обоснование классификационной модели разделения на группы ЭБД и ЧБД по параметры липидтранспортной системы и кортизола

N = 39	Итоги анализа дискриминантных функций Лямбда Уилкса: 0,71122 прилб. F (3,35) = 4,7371 p < ,0071					
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	F-исключ. (1,35)	p-уровень	Толер.	1-толер (R ²)
ХСЛПНП, ммоль/л	0,756039	0,940716	2,205696	0,146454	0,862304	0,137696
ХСЛПВП, ммоль/л	0,779354	0,912574	3,353064	0,075604	0,926689	0,073311
Кортизол, нмоль/л	0,756540	0,940093	2,230375	0,144282	0,899579	0,100421

Отнесение детей к группе ЧБД проводится по вышеприведенным формулам дискриминантного анализа. Апостериорное перераспределение объектов по группам ЭБД и ЧБД показало, что те дети, которые по формулам дискриминантного анализа перешли в другую группу, были исключены из последующего этапа определения уровней информационно значимых показателей для расчета эталонных средних значений. Вновь полученные расчетные значения представлены в таблице 3.

Таблица 3. - Критерии отнесения детей к группам эпизодически и часто болеющих по показателям содержания кортизола, ХСЛПВП и ХСЛПНП.

Показатели	Группа эпизодически болеющих детей	Группа часто болеющих детей
ХС-ЛПВП, ммоль/л	более 1,3	менее 1,3
ХС-ЛПНП, ммоль/л	1,9-2,4	более 3,2
Кортизол, нмоль/л	339,4-472,7	более 481,1

Полученная таблица может служить ориентиром для априорного отнесения детей к группе ЧБД при условии соответствия всех показателей одной из групп. При содержании ХС-ЛПНП в интервале 2,5-3,1 ммоль/л и кортизола в интервале 472,8-481,0 нмоль/л, детей следует относить к группе повышенного риска ЧБД и их необходимо обследовать повторно.

Чувствительность метода составила 87,5%, специфичность – 73,3%.

Изменение содержания рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови во взаимосвязи с содержанием кортизола крови ЧБД в интерморбидный период. В группе ЧБД содержание рецепторов кортизола (GR) достоверно ниже, чем у ЭБД (p=0,0003) на фоне неизменного содержания кортизола крови. Отношение кортизол/рецепторы достоверно выше у ЧБД чем у ЭБД (p=0,00003), что может являться косвенным признаком снижения чувствительности рецепторов к кортизолу в группе ЧБД (таблица 4).

Таблица 4. - Количество кортизола в крови, рецепторов в клетках лимфоцитарного ряда и их соотношение, Me (P25...P75)

	Кортизол, нмоль/л	GR, %	Кортизол/GR
ЧБД (n=25)	606,46 (494,2...754,3)	43,11 (36,3...46,3)	15,08 (11,3...20,6)
ЭБД (n=12)	590,2 (488,9...668,6)	59,66 (53,6...65,8)	9,95 (8,4...10,8)
p	>0,05	0,0003	0,00003

Двухэтапный кластерный анализ содержания кортизола и его рецепторов у ЧБД разделил их на 2 кластера. Дисперсионный анализ этих кластеров по содержанию кортизола и его рецепторов выявил достоверные отличия между 1-м и 2-м кластерами по содержанию кортизола. При этом достоверно более высокое содержание кортизола было во 2-м кластере ЧБД в сравнении с ЭБД ($p < 0,0001$).

Оценка отличий взвешенных средних количества рецепторов к кортизолу показала более низкое их содержание у ЧБД, чем у ЭБД при отсутствии отличий между кластерами ЧБД. Количество кортизола в 1-м кластере ЧБД не отличалось от такового в группе ЭБД, и являлось статистически значимо более низким, чем во 2-м кластере. При этом отношение кортизол/GR было статистически значимо выше в 1-м кластере ЧБД по сравнению с ЭБД ($p = 0,016$). Во втором кластере ЧБД это отношение было достоверно выше, чем у ЭБД и в 1-м кластере ЧБД ($p = 0,000003$ и $0,0063$ соответственно).

Однофакторный дисперсионный анализ на трех уровнях с последующим апостериорным сравнением зависимой переменной, в качестве которой выступило абсолютное соотношение изученных показателей, показал, что значения F-критерия Фишера имели высокую статистическую значимость. Доля влияния независимой переменной (группа-кластер) на модель составила 94,1%. В результате пошагового дискриминантного анализа с использованием в качестве дополнительных переменных количества ХС и ТГ ЛПК крови в априорную прогностическую модель дифференцировки ЧБД от ЭБД отобрана только одна переменная – содержание общих рецепторов к кортизолу. Полученная модель позволила классифицировать наблюдаемые объекты с надежностью 87,8%, при этом с наибольшей вероятностью дифференцируются ЧБД с низким содержанием кортизола (91,7%). Указанные показатели использованы для создания алгоритма лабораторного обоснования продолжения наблюдения детей 3–7 лет в группе диспансерного наблюдения «ЧБД». По содержанию рецепторов к кортизолу составлена нелинейная логистическая модель отнесения детей с низким содержанием кортизола к группе ЧБД. Чувствительность модели составила 83,3%, специфичность – 91,7%.

Прогностическая логистическая модель описывается уравнением:

$$y = \exp(12,7051 + (-0,2558) * x) / (1 + \exp(12,7051 + (-0,2558) * x));$$

где x – уровень содержания общих рецепторов к кортизолу, %.

ROC-анализ расчетных регрессионных данных показал, что регрессия правильно описывает 94,4% всех наблюдений ($p < 0,001$). Квартильный анализ ранжированных данных соотношения кортизол/рецепторы выявил точки отнесения к группам ЧБД или ЭБД (таблица 5).

Таблица 5. - Эталонные значения рассчитанных показателей кортизола и соотношения показателей кортизола и общих рецепторов к кортизолу.

Группа наблюдения	Показатель соотношения	Характеристика риска заболеваемости	Рекомендации по диспансерному наблюдению
ЭБД	до 13,5	Приемлемый риск заболеваемости ОРИ	практически здоровые – 1-я группа диспансерного наблюдения
ЧБД с уровнем кортизола до 670 нмоль/л	более 13,5	Повышенный риск заболеваемости ОРИ	2 группа диспансерного наблюдения (ЧБД)
ЧБД с уровнем кортизола свыше 670 нмоль/л	свыше 18,9	Высокий риск заболеваемости ОРИ	

Основные показатели иммунной, липидтранспортной системы и содержание кортизола у ЧБД при заболевании ОРИ. ОРИ у ЧБД статистически значимо ($p=0,045$) снижает количество кортизола по сравнению с интерморбидным периодом. В группе ЭБД при развитии ОРИ, по сравнению с интерморбидным периодом, достоверно увеличивается содержание ОХС за счет ХС ЛПНП ($p=0,047$), при этом содержание кортизола не меняется, что характерно для воспалительных процессов, при которых ухудшается элиминация ЛПНП из кровотока [Nigon F., 1991; DeSanctis J.P., 1998]. Показатели ЛТС и количество кортизола крови ЧБД и ЭБД при ОРИ не отличались, что говорит о наличии у ЧБД в интерморбидный период профиля ЛТС и количества кортизола, характерных для ЭБД при ОРИ. Анализ показателей СИ показал, что у ЭБД количество IgG и IgA при ОРИ было выше по сравнению со здоровыми ЭБД, что может быть защитной реакцией на развитие инфекционного процесса. У ЧБД при ОРИ снижалось количество IgA ($p=0,028$) по сравнению с ЧБД в интерморбидном периоде. Сравнение содержания Ig у ЧБД и ЭБД при ОРИ выявил достоверно более низкое содержание IgA у ЧБД ($p=0,03$), что согласуется с эффектами снижения содержания кортизола [Grason G., 1981].

Особенности функционирования эндокринной, липидтранспортной систем у ЧБД при ОРИ, протекающих с поражением нижних отделов

респираторного тракта. Поражение нижних отделов респираторного тракта у ЧБД приводит к снижению содержания ХС ЛПНП и повышению количества ХС ЛПОНП и ТГ ($p=0,018$, $0,001$, $0,001$ соответственно) по сравнению с интерморбидным периодом. Количество кортизола остаётся достоверно ниже, чем в интерморбидный период ($p=0,00001$). Полученная картина согласуется с результатами экспериментальной адреналэктомии [Титов В.Н., 1978].

У ЭБД утяжеление ОРИ сопровождалось лишь ростом содержания ХС ЛПОНП и ТГ по сравнению с интерморбидным периодом ($p=0,019$), что характерно для воспалительных процессов [Khovidhunkit W., 2000]. При этом содержание кортизола было достоверно выше, чем в аналогичной группе ЧБД.

Содержание кортизола у ЧБД и ЭБД в остром периоде внегоспитальной пневмонии средней степени тяжести характерно для групп в целом: кортизол ЭБД составил $493,13 \pm 207,96$ нмоль/л, ЧБД – $312,37 \pm 146,95$ нмоль/л ($p=0,045$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Ключевую роль в формировании повышенной восприимчивости ЧБД к ОРИ играют количество кортизола крови и его рецепторов в лейкоцитах. Содержание кортизола крови у ЧБД в интерморбидном периоде на 19,5% выше, чем у ЭБД ($p=0,035$). Группа ЧБД неоднородна и разделена на 2 кластера: с повышенным содержанием кортизола крови и не отличающимся от нормальных значений. Количество рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови детей группы «ЧБД» ниже на 27,74%, чем у ЭБД ($p=0,0003$, $0,00003$ соответственно). Соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу у ЧБД выше, чем у ЭБД на 51,5% ($p=0,00003$) [2, 6, 7, 9, 13, 14, 16, 17, 18].

2. Изменение содержания кортизола и его ядерных рецепторов у ЧБД сопровождается сдвигами клиничко-лабораторных показателей ЛТС. ЧБД по сравнению с ЭБД характеризуются повышенным содержанием апо-А ($227 \pm 35,7$ и $179 \pm 28,4$ мг/дл соответственно, $p=0,0019$), апо-В ($118,8 \pm 19,8$ и $95,15 \pm 22,25$ мг/дл соответственно, $p=0,015$), ОХС крови ($5,07 \pm 0,96$ и $4,2 \pm 0,81$ ммоль/л соответственно) за счет ХС ЛПНП ($3,38 \pm 0,9$ и $2,38 \pm 0,77$ ммоль/л соответственно), более низким содержанием ХС ЛПВП ($1,26 \pm 0,3$ и $1,44 \pm 0,3$ ммоль/л соответственно), содержанием лизофосфатидов ЛПВП в пересчете на апо-А ($5,7 \pm 1,9$ и $9,7 \pm 2,4$ соответственно), ($p < 0,05$). В нативных ЛПОНП и ЛПНП часто болеющих детей содержание ТГ и белка ниже, чем у ЭБД. В ЛПОНП процентное содержание пальмитиновой кислоты ниже ($43,92 \pm 3,19\%$ и $56,85 \pm 9,62\%$ соответственно), а олеиновой – выше ($32,66 \pm 12,13\%$ и $19,29 \pm 8,14\%$ соответственно), чем у ЭБД. Часто и эпизодически болеющие дети по жирнокислотному спектру ЛПОНП имеют различные взаимозависимости. Изменение содержания кортизола и его ядерных рецепторов у ЧБД сопровождается сдвигами показателей СИ. У ЧБД в интерморбидном периоде

более низкие показатели фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса ($p < 0,0001$), более высокое содержание иммуноглобулинов G ($p < 0,0001$), M ($p = 0,01$), A ($p = 0,01$), соотношение CD4/CD8 ($p = 0,028$) по сравнению с ЭБД. Полученные результаты характеризуют особенности метаболического статуса ЧБД, предрасполагающие к повышенной восприимчивости к возбудителям ОРИ [3, 5, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17].

3. На основании установленных отличий в показателях ЛТС и содержании кортизола крови разработана модель разделения на группы ЧБД и ЭБД (чувствительность 87,5%, специфичность – 73,3%). Кортизол крови, холестерол ЛПНП и холестерол ЛПВП являются маркерами отнесения к группе диспансерного наблюдения «ЧБД» с пороговыми значениями кортизола крови – 481,1 нмоль/л, ХС ЛПВП – 1,3 ммоль/л, ХС ЛПНП – 3,2 ммоль/л. На основании разработанной модели разработан, обоснован и внедрен в клиническую практику «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» [19]. Соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу лейкоцитов крови является маркером индивидуальной предрасположенности к острым респираторным инфекциям. Показатель использован для разработки прогностической модели определения индивидуального риска развития ОРИ у детей (чувствительность – 83,3%, специфичность – 91,7%) и инструкции по применению «Метод оценки индивидуального риска острых респираторных инфекций у детей» [4, 6, 7, 20].

4. Доля заболеваемости детского населения ОРИ по Витебской области за 10 лет наблюдения составила от 49,48% до 55,23% от общей заболеваемости ОРИ. ОРИ, сопровождаются разнонаправленными сдвигами в эндокринной и иммунной системах у ЧБД и ЭБД. ОРИ у ЧБД вызывают снижение содержания кортизола крови ($p = 0,045$), Ig A ($p = 0,028$) по сравнению с интерморбидным периодом и отсутствие реакции ЛТС. У ЭБД выявлено статистически значимое увеличение содержания ОХС ($p = 0,047$) за счет ХС ЛПНП ($p = 0,047$), повышение содержания Ig A ($p = 0,03$) и G ($p < 0,0001$) и отсутствие изменений содержания кортизола. Содержание Ig A при ОРИ у ЧБД ниже, чем у ЭБД ($p = 0,03$). Развитие инфекционного поражения нижних отделов респираторного тракта вызывает изменения ЛТС и ЭС у ЧБД (снижение содержания кортизола ($p = 0,00001$), ХС ЛПНП ($p = 0,018$), увеличение – ХС ЛПОНП ($p = 0,001$) и ТГ ($p = 0,001$), характерные для воспалительного процесса более высокой интенсивности. У ЭБД повышается содержание ХС ЛПОНП ($p = 0,019$) и ТГ ($p = 0,019$) по сравнению с интерморбидным периодом. Содержание кортизола у ЭБД ($432,1 \pm 141,9$ нмоль/л) было выше, чем у ЧБД ($330,3 \pm 139,3$ нмоль/л) [1, 8, 10]. Полученные данные обосновывают необходимость дифференцированных подходов к лечению ОРИ у ЧБД и ЭБД.

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При возникновении повторных ОРИ в течение года у детей дошкольного возраста целесообразно исследовать у них в интерморбидном периоде содержание ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, кортизола крови с целью раннего и объективного отнесения в группу диспансерного наблюдения «ЧБД» и назначения адекватного комплекса реабилитационных и профилактических мероприятий [4]. На основании полученных результатов разработана инструкция по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» [19], которая утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 123-1114 от 27.11.14) и внедрена в учреждении здравоохранения «Витебский областной детский клинический центр».

2. С целью объективизации снятия с диспансерного учета детей группы «ЧБД» рекомендуется исследовать содержание кортизола и рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови с последующим вычислением их соотношения и сравнением с эталонными значениями в соответствии с разработанной инструкцией по применению «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей» [7, 20], утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 140-1115 от 27.11.15).

3. Полученные результаты исследования иммунной, эндокринной, липидтранспортной систем ЧБД в интерморбидном периоде рекомендуются для дальнейшей разработки методов профилактики повторных ОРИ у ЧБД. Результаты могут быть использованы врачами-педиатрами в учреждениях здравоохранения первичного звена оказания медицинской помощи с целью оптимизации диспансеризации детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями, а также эпидемиологами центров гигиены и эпидемиологии для разработки и коррекции плана профилактических мероприятий в детских коллективах [3, 5, 6].

4. При выборе тактики и способов лечения ОРИ (в том числе протекающих с поражением нижних отделов респираторного тракта) рекомендуется учитывать наличие различий в реакции ЭС, ИС и ЛТС у ЧБД и ЭБД, что определяет необходимость дальнейшей разработки методов лечения ОРИ у ЧБД [8].

5. Рекомендуется исследование полиморфизма генов, кодирующих рецепторы к кортизолу, для выявления причин феномена «ЧБД».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА

Статьи в рецензируемых научных журналах

1. Голюченко, О.А. Вопросы эпидемиологии и профилактики острых респираторных инфекций в Республике Беларусь / **О.А. Голюченко**, В.М. Семенов // Вестник ВГМУ. – 2007. - №4. –Т.6. – С. 121-127.
2. Голюченко, О.А. Особенности функционирования и взаимосвязь иммунной и липидтранспортной систем у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Вестн. ВГМУ. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 36–42.
3. Голюченко, О.А. Повышенное содержание кортизола у часто болеющих детей как фактор, увеличивающий восприимчивость к острым респираторным инфекциям / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Клин. лаб. диагностика. – 2010. – № 12. – С. 14–16.
4. Осочук, С.С. Клинико-лабораторные критерии отнесения детей к диспансерной группе часто болеющих / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, **О.А. Голюченко** // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 3. – С. 21–23.
5. Осочук, С.С. Состав липопротеинов очень низкой плотности детей, часто болеющих респираторными инфекциями / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко** // Лаб. диагностика. Восточ. Европа. – 2014. – № 4 (12). – С. 120–127.
6. Гормональная неоднородность детей группы диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко**, Г.Д. Коробов, Г.И. Юпатов, И.О. Астапович // Лаб. диагностика. Восточ. Европа. – № 2 (14). – 2015. – С. 56–62.
7. Голюченко, О.А. Обоснование метода оценки индивидуальной предрасположенности к острым респираторным инфекциям детей группы диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / **О.А. Голюченко** // Вестн. ВГМУ. – 2015. – Том 14, № 5. – С. 78–86.
8. Голюченко, О.А. Некоторые особенности эндокринной, иммунной, липидтранспортной систем часто болеющих детей при острых респираторных инфекциях / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2015. – №4. – С. 54–57.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

9. Осочук, С.С. Некоторые показатели иммунной и липидтранспортной системы часто болеющих детей / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко** // Достижения медицинской науки Беларуси: сб. науч. ст. — Минск: ГУ РНМБ, 2009. — Вып. XIV. – С. 163-164.
10. Особенности функционирования эндокринной, иммунной и липидтранспортной системы детей, часто болеющих респираторными инфекциями / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко**, Н.В. Бресская, Е.В. Авсюк, Т.Л. Кудряшова, Л.Н. Данилова // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2009. – С. 512–516.

11. Голюченко, О.А. Кортизол как фактор повышенной восприимчивости к острым респираторным инфекциям у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 65-й науч. сес. сотр. ун-та, 24–25 марта 2010 г. – Витебск : ВГМУ, 2010. – С. 258–260.

12. Голюченко, О.А. Некоторые особенности состава липопротеиновых комплексов детей часто болеющих острыми респираторными инфекциями / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, Н.И. Телятицкий // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 66-й науч. сес. сотр. ун-та, 27–28 янв. 2011 г. – Витебск : ВГМУ, 2011. – С. 124–125.

13. Голюченко, О.А. Содержание рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови у детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, И.О. Астапович // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-й науч. сес. сотр. ун-та, 28–29 янв. 2015 г. – Витебск : ВГМУ, 2015. – С. 27–28.

Тезисы докладов

14. Голюченко, О.А. Отличия липидтранспортной и иммунной систем часто и длительно болеющих мальчиков и девочек в состоянии ремиссии / **О.А. Голюченко** // Труды молодых ученых 2009. – Минск : БГМУ, 2009. – С. 42–45.

15. Голюченко, О.А. Сравнительная характеристика функционирования липидтранспортной системы часто болеющих острыми респираторными инфекциями детей северных и южных регионов Беларуси / **О.А. Голюченко** // Студенческая медицинская наука XIX века : материалы X междунар. науч.-практ. конф., 4–5 нояб. 2010 г. – Витебск, 2010. – С. 187–188.

16. Голюченко, О.А. Разбалансировка регуляции синтеза и рецепции кортизола как фактор повышенной восприимчивости к острым респираторным инфекциям у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, Г.Д. Коробов // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 150.

17. Голюченко, О.А. Патогенетические механизмы повышенной восприимчивости часто болеющих детей к возбудителям острых респираторных инфекций / **О.А. Голюченко** // Студенческая медицинская наука XXI века, посвященная 80-летию образования ВГМУ : материалы XIV междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 23–24 окт. 2014 г. – Витебск : ВГМУ, 2014. – С. 141–143.

18. Голюченко, О.А. Роль некоторых вирусов в этиологической структуре острых респираторных инфекций у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко** // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. – Витебск : ВГМУ, 2014. – С. 136–138.

Инструкции по применению

19. Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, О.А. Голюченко. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 123-1114. – Минск, 2014. – 5 с.

20. Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, О.А. Голюченко, Г.И. Юпатов. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 140-1115. – Минск, 2015. – 3 с.

РЭЗІЮМЭ

Галючэнка Вольга Анатольеўна

Узаемасувязь эндакрыннай, імуннай і ліпідтранспартнай сістэмаў у дзяцей, якія часта хварэюць вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі

Ключавыя словы: вострыя рэспіраторныя інфекцыі, часта хварэючыя дзеці (ЧХД), картызол, ліпідтранспартная сістэма.

Мэта работы: устанавіць патагенетычныя асаблівасці эндакрыннай, ліпідтранспартнай і імуннай сістэм, якія вызначаюць павышаную схільнасць дзяцей да вострых рэспіраторных інфекцый, і на іх грунце распрацаваць метады аднясення ў групу дыспансэрнага назірання «ЧХД».

Метады даследавання: клінічны, імуналагічны, біяхімічны, радыяімуны, імунаферментны, працэкавая цытаметрыя, танкаслойная і газавая храматаграфія, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: ІФА-аналізатар «Віцязь» Ф 300 ТП, працэкавы цытометр Beckman Coulter Cytomic FC 500, ультрацэнтрыфуга «OptimaLE 80K», цэнтрыфугі PC-6, T-23, біяхімічны аналізатар ScreenMaster, газавы храматограф FocusGC, γ-лічыльнік «Vizard».

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню вызначаны малекулярна-біялагічныя асаблівасці, якія ляжаць у аснове павышанай схільнасці дзяцей да частых рэспіраторных інфекцый. Выяўлена павышэнне ўтрымання картызолу крыві, зніжэнне ўтрымання яго рэцэптараў у лейкоцытах крыві, павышэнне суадносін картызол/рэцэптары ў інтэрмарбідны перыяд у часта хварэючых дзяцей у параўнанні з эпізадычна хварэючымі. Упершыню паказана наяўнасць дзвюх падгруп у групе ЧХД па ўтрыманні картызолу. Вызначаны змены паказнікаў ліпідтранспартнай, імуннай і эндакрыннай сістэм у іх узаемасувязі ў ЧХД як у інтэрмарбідны перыяд, так і пры вострых рэспіраторных інфекцыях з розным узроўнем паражэння рэспіраторнага тракта).

Распрацаваны аб'ектыўныя крытэрыі аднясення дзяцей дашкольнага ўзросту да групы часта хварэючых вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі, а таксама метады ацэнкі індывідуальнай рызыкі вострых рэспіраторных інфекцый у дзяцей».

Рэкамендацыі па выкарыстанні: Распрацоўка метадаў прафілактыкі паўторных вострых рэспіраторных інфекцый у ЧХД. Аптымізацыя дыспансэрызацыі дзяцей, якія часта хварэюць вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі, распрацоўка і карэкцыя плана прафілактычных мерапрыемстваў у дзіцячых калектывах.

Вобласць ужывання: інфекцыйныя хваробы, педыятрыя, гігіена і эпідэміялогія.

РЕЗЮМЕ

Голюченко Ольга Анатольевна

Взаимосвязь эндокринной, иммунной и липидтранспортной систем у детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями

Ключевые слова: острые респираторные инфекции (ОРИ), часто болеющие дети (ЧБД), кортизол, липидтранспортная система.

Цель работы: установить патогенетические особенности эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем, определяющие повышенную восприимчивость детей к острым респираторным инфекциям, и на их основе разработать объективный метод отнесения в группу диспансерного наблюдения «часто болеющие дети».

Методы исследования: клинический, иммунологический, биохимический, радиоиммунный, иммуноферментный, проточная цитометрия, тонкослойная и газовая хроматография, статистический.

Использованная аппаратура: ИФА-анализатор «Витязь» Ф 300 ТП, проточный цитометр Beckman Coulter Cytomic FC 500, ультрацентрифуга «OptimaLE 80К», центрифуги PC-6, T-23, биохимический анализатор ScreenMaster, газовый хроматограф FocusGC, γ-счетчик «Vizard».

Полученные результаты и их новизна. Впервые определены молекулярно-биологические особенности, лежащие в основе предрасположенности детей к частым респираторным инфекциям. Установлено повышение содержания кортизола крови, снижение содержания рецепторов к нему в лейкоцитах крови, повышение соотношения кортизол/рецепторы у часто болеющих детей в интерморбидном периоде по сравнению с эпизодически болеющими. Впервые показано наличие двух подгрупп в группе ЧБД по содержанию кортизола. Определены изменения показателей эндокринной, липидтранспортной, иммунной систем в их взаимосвязи у часто болеющих детей как в интерморбидный период, так и при острых респираторных инфекциях с различным уровнем поражения респираторного тракта. Разработаны объективные критерии отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями, а также метод оценки индивидуального риска острых респираторных инфекций у детей

Рекомендации по использованию. Разработка методов профилактики повторных ОРИ у ЧБД. Оптимизация диспансеризации детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями, разработка и коррекция плана профилактических мероприятий в детских коллективах.

Область применения: инфекционные болезни, педиатрия, гигиена и эпидемиология.

SUMMARY

Golyuchenko Olga Anatolyevna

Interrelation of endocrine, immune and lipidtransport systems at the children who often have acute respiratory infections

Key words: acute respiratory infections, often ill children, cortisol, lipidtransport system.

Objective: To establish pathogenetic features of endocrine, lipidtransport and immune systems, those define increased susceptibility of children to acute respiratory infections and on their basis to develop objective method for reference in group of dispensary supervision.

Methods of research: clinical, immunological, biochemical, radioimmune, ELISA, flow cytometry, thin-layer and gas chromatography, statistical.

Equipment: "Vityaz" IFA-analyzer of F 300 TP, flow citometer Beckman Culter Cytomic FC 500, OptimaLE 80K ultracentrifuge, RS-6, T-23 centrifuges, biochemical ScreenMaster analyzer, FocusGC gas chromatograph, γ -counter "Vizard".

Results and their novelty. Molecular and biological features that are lying at the base of children susceptibility to frequent respiratory infections were estimated for the first time. Increased content of blood cortisol, decreased content of cortisol receptors in blood leucocytes and increased cortisol/receptors ratio during the intermorbid period at often ill children compared with episodically ill were determined for the first time. Availability of two subgroups in often ill children group on content of cortisol was for the first time shown. Changes in indicators of lipidtransport, immune and endocrine systems in their interrelation at often ill children both during the intermorbid period, and in case of acute respiratory infections with different level of respiratory path defeat are for the first time determined. Objective criteria of reference of children of preschool age to group of often ill with acute respiratory infections and method of individual risk of acute respiratory infections at children were developed.

Recommendations for use: Development of methods of prevention of recurrent acute respiratory infections at often ill children. Optimization of medical examination of the children who often have acute respiratory infections, development and correction of the plan of preventive actions in children's collectives.

Application area: infectious diseases, pediatrics, hygiene and epidemiology.

ВВЕДЕНИЕ

В структуре заболеваемости детского населения инфекционными заболеваниями ведущая роль принадлежит острым респираторным инфекциям (ОРИ). От 1,5 до 75% детей отличаются от сверстников более высокой частотой ОРИ и обеспечивают наиболее значимые финансовые потери государства. Таких детей называют часто болеющими детьми (ЧБД) и относят в отдельную группу диспансерного наблюдения по факту 4-5-ти и более кратного заболевания ОРИ в течение года в зависимости от возраста [Альбицкий В.Ю. и Баранов А.А., 1986]. Более эффективным является метод отнесения таких детей к ЧБД, основанный на особенностях взаимодействия возбудителей ОРИ и защитных систем организма, до заболевания частыми ОРИ. Однако эти особенности не определены.

Таким образом, одной из наиболее актуальных задач детской инфектологии является изучение механизмов взаимодействия возбудителей ОРИ и защитных систем организма ребенка. Знание таких механизмов позволит разработать объективные критерии раннего отнесения детей к группе наблюдения «ЧБД», а так же обосновать направления профилактических мероприятий с учетом индивидуальной предрасположенности ЧБД к ОРИ.

Учитывая то, что ранее проведенные работы не выявили общих для всех ЧБД закономерностей изменения иммунной системы [Земсков А.М., 1994; Барычева Л.Ю., 2010 и др.], приоритетных возбудителей ОРИ [Беляева Л.М.; 2006; Василевский И.В., 2008 и др.], причины повышенной восприимчивости могут определяться особенностями метаболического и гормонального профилей. Наиболее предпочтительными в этом отношении выглядят липидтранспортная система (ЛТС), система продукции и действия кортизола и тиреоидных гормонов, способных оказать значительное влияние на состояние системы иммунитета [Вахитов Х.М., 2004; Кокорева С.П., 2008].

В связи с вышесказанным, целью работы явилась разработка объективных клинико-лабораторных критериев раннего включения детей дошкольного возраста в группу диспансерного наблюдения «ЧБД» на основе особенностей функционирования липидтранспортной, эндокринной и иммунной систем.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» по заданию 1.2.80: «Установить особенности функционирования липидтранспортной системы крови у детей, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями и у взрослых с пневмониями различного происхождения с целью разработки новых критериев

поликлинического мониторинга и патогенетически обоснованной фармакологической коррекции этих состояний» (№ гос. регистрации 20143426). Диссертационная работа соответствует приоритетному направлению фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 апреля 2010 года № 585) «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии, клеточные и молекулярно-биологические технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения».

Цель и задачи исследования

Цель исследования: установить патогенетические особенности эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем, определяющие повышенную восприимчивость детей к острым респираторным инфекциям, и на их основе разработать объективный метод отнесения в группу диспансерного наблюдения «часто болеющие дети».

Задачи исследования:

1. Установить отличительные особенности содержания кортизола крови и его рецепторов в лейкоцитах крови ЧБД и эпизодически болеющих детей (ЭБД) в интерморбидном периоде, как факторов предрасположенности к частым респираторным инфекциям.

2. Определить спектр изменений основных показателей ЛТС крови (общий холестерол, холестерол липопротеинов низкой, очень низкой и высокой плотности, триглицериды, содержание апо-В и апо-А, фосфолипидные классы липопротеинов высокой плотности, спектра жирных кислот нативных липопротеиновых комплексов крови), метаболически связанных с уровнем глюкокортикоидов, в интерморбидном периоде у ЧБД.

3. Определить сдвиги показателей клеточного (CD4, CD8, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) и гуморального (IgA, IgM, IgG) иммунитета, детерминирующих восприимчивость к возбудителям ОРИ у детей группы ЧБД в интерморбидном периоде в их взаимосвязи с количеством кортизола крови.

4. На основе выявленных клинико-лабораторных отличий ЧБД и ЭБД разработать объективный метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «ЧБД».

5. Установить отличительные особенности изменений клинико-лабораторных показателей эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем при ОРИ с разным уровнем поражения дыхательных путей у ЧБД и ЭБД.

Объект исследования: 268 детей, часто и эпизодически болеющих ОРИ в интерморбидном периоде, а также в период заболевания ОРИ.

Предмет исследования: показатели эндокринной, липидтранспортной, иммунной систем у детей группы диспансерного наблюдения «ЧБД» в

состоянии клинического здоровья и ОРИ в сравнении с эпизодически болеющими детьми.

Научная новизна

Впервые определены молекулярно-биологические особенности показателей эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем лежащие в основе предрасположенности детей к частым респираторным инфекциям. Установлено, что содержание кортизола крови у часто болеющих детей в интерморбидном периоде выше, чем у эпизодически болеющих детей (ЭБД). Впервые определено, что группа часто болеющих детей по содержанию кортизола крови неоднородна и разделена на 2 кластера: с повышенным содержанием кортизола и не отличающимся от нормальных значений. Установлено, что количество рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови ЧБД ниже, а соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу выше, чем у ЭБД. Выявлено, что изменения ЛТС крови в группе ЧБД сходны с изменениями, характерными для гиперкортизолемии. Разработана модель разделения детей дошкольного возраста на группы ЧБД и ЭБД на основании определения содержания кортизола крови, холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), а также разработана прогностическая модель определения индивидуального риска развития ОРИ на основании содержания ядерных рецепторов к кортизолу. Разработаны и внедрены в клиническую практику «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей».

Впервые определены особенности реакции показателей ЛТС, системы иммунитета (СИ) и эндокринной системы (ЭС) у часто и эпизодически болеющих детей при ОРИ с поражением верхних и нижних отделов респираторного тракта, характеризующих выраженность воспалительного процесса.

Положения, выносимые на защиту

1. В интерморбидном периоде дети, часто болеющие ОРИ, имеют сдвиги клинико-лабораторных показателей эндокринной системы, характеризующиеся повышенным содержанием кортизола крови, сниженным содержанием его рецепторов в лейкоцитах крови, а так же более высоким соотношением кортизол/рецепторы, сопровождающиеся значительными изменениями показателей ЛТС и СИ. Выявленные изменения свидетельствуют о ключевой роли кортизола и его рецепторов в повышенной восприимчивости ЧБД к ОРИ и позволяют объяснить отсутствие единых изменений ИС у ЧБД.

2. Значения показателей содержания кортизола крови $>481,1$ нмоль/л, ХС ЛПВП $< 1,3$ ммоль/л, ХС ЛПНП $>3,2$ ммоль/л являются клинико-лабораторными критериями отнесения детей к группе ЧБД с чувствительностью 87,5% и специфичностью 73,3%, в то время как

существующие методики формирования группы ЧБД, основанные на частоте заболевания ОРИ, не позволяют проводить раннее отнесение к группе диспансерного наблюдения и осуществлять объективный контроль эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Показатели содержания кортизола крови и соотношение кортизол/рецепторы являются критериями индивидуального риска развития ОРИ у детей с чувствительностью 83,3% и специфичностью 91,7%.

3. ОРИ с различным уровнем поражения респираторного тракта снижают у ЧБД концентрацию кортизола крови по сравнению с интерморбидным периодом. ЭБД не реагируют на ОРИ изменением содержания кортизола, однако его содержание у ЭБД выше, чем у ЧБД при развитии поражения нижних дыхательных путей. Реакция ЛТС у ЧБД при поражении нижних отделов респираторного тракта сходна с таковой при адреналэктомии и характеризуется снижением ХС ЛПНП и ростом холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и триглицеридов (ТГ), что свидетельствует о нарушении регуляции активности воспалительного процесса с развитием воспаления более высокой интенсивности. Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли кортизола в патогенезе ОРИ у ЧБД.

Личный вклад соискателя ученой степени

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории и кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Постановка проблемы, выбор темы диссертации, формулировка цели и задач исследования, методологических подходов, положений выносимых на защиту проведены совместно с научным руководителем. Планирование и выполнение основных этапов исследования проведены автором лично. Автором проведен патентно-информативный поиск, проанализировано более 400 литературных источников отечественных и зарубежных авторов [2] (вклад соискателя 90%). Основные научные результаты, представленные в диссертации, получены автором лично и изложены в инструкциях по применению и статьях (доля диссертанта в совместных публикациях – 75%) [1-20]. По результатам выполненных исследований определены особенности функционирования СИ, ЛТС, ЭС у детей группы «ЧБД» в интерморбидном периоде, при ОРИ и изложены в статьях [6, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17] (вклад соискателя 80%). Описаны особенности обеспеченности полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), состава липопротеиновых комплексов (ЛПК) у ЧБД в интерморбидном периоде [5, 12] (вклад 70%). Изучен вклад наиболее распространенных респираторных вирусов в этиологическую структуру ОРИ у ЧБД [1, 18] (вклад 95%). Содержание кортизола крови и кортизолных рецепторов в клетках ИС у ЧБД в интерморбидном периоде описано в статьях [3, 11, 13] (вклад 75%). Определены и обоснованы клиничко-лабораторные

критерии отнесения детей дошкольного возраста к группе «ЧБД» [4, 7, 19] (вклад 75%). Выявленные отличия гормонального и метаболического профилей ЧБД использованы для разработки инструкций по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» № 123-1114 и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей» № 140-1115 [20]. Формирование базы данных, её статистическая обработка, обобщение результатов, формулировка выводов и рекомендаций, оформление диссертационной работы выполнены соискателем лично.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения диссертации обсуждены на заседаниях кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»; проблемной комиссии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Инфекция»; 65-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2010), 66-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2011); 70-й научной сессии университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (2015); 66-й итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (2014); 14 международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука 21 века», посвященной 80-летию образования ВГМУ (2014). Результаты работы представлены на научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 2009) и на 16 международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Париж, 2011).

Разработаны и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкции по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями» и «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей». Имеются акты внедрения результатов работы в учреждении здравоохранения «Витебский областной детский клинический центр» и учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации

В соавторстве и единолично опубликовано 18 печатных работ общим объёмом 5,46 авторских листа, в том числе - 8 статей в рецензируемых журналах общим объёмом 3,81 авторских листа (в том числе 1 в Российской Федерации), 10 публикаций в сборниках тезисов, научных трудов и материалах конференций общим объёмом 1,65 авторских листа (в том числе

международного конгресса). Подготовлены и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь 2 инструкции по применению.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего 87 русскоязычных и 57 иностранных источников, списка работ соискателя, 7 приложений. Работа изложена на 121 странице компьютерного текста. Объем, занимаемый 27 таблицами - 12 страниц, 20 рисунками - 7 страниц, приложениями - 14 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика пациентов и методы исследования

Работа основана на результатах клинических и лабораторных исследований детей в возрасте 3-11 лет, находившихся на диспансерном наблюдении врачей педиатров и иммунологов детских поликлиник г. Витебска, г. Пинска, а также, на стационарном лечении по поводу различных клинических форм ОРИ, в г.г. Витебск, Орша, Пинск за период 2008-2015гг.

Сформировано 6 экспериментальных групп: 1) ЧБД в интерморбидный период (120 детей); 2) ЭБД в интерморбидный период (38 детей); 3) ЧБД в остром периоде острой респираторной инфекции - 56 детей; 4) ЭБД в остром периоде острой респираторной инфекции - 54 ребенка; 5) ЧБД, ОРИ которых протекали с поражением нижних дыхательных путей - 38 детей (в том числе 11 осложненных пневмонией); 6) ЭБД, ОРИ которых протекали с поражением нижних дыхательных путей - 30 детей (в том числе 10 осложненных пневмонией). Наличие хронических заболеваний являлось критерием исключения из исследования.

В интерморбидном периоде у ЧБД и у ЭБД кровь забирали натощак с 7.30 до 8.30, в гепаринизированные пробирки не менее чем через 2 недели после перенесенной ОРИ. Отсутствие воспалительного процесса подтверждали исследованием показателей периферической крови. Кровь освобождали от форменных элементов центрифугированием в центрифуге РС6 при 3000 оборотах в минуту. Плазму замораживали до обработки при -60°C в морозильной камере Forma (США). Исследование СИ и количества рецепторов к кортизолу проводили в день отбора крови. У ЧБД и ЭБД при ОРИ, кровь забиралась в гепаринизированные пробирки на 2 - 3 день заболевания. Получение и хранение плазмы проводилось аналогично группе интерморбидного периода.

Определение специфических иммуноглобулинов крови к наиболее распространенным возбудителям респираторных инфекций проводилось наборами «Pneumovirus ELISA IgG», Vircell (Испания) на ИФА-анализаторе

«Витязь» Ф 300 ТП (Беларусь). Выявлено, что у 100% обследованных детей есть IgG к респираторно-синцитиальному вирусу и вирусу гриппа типа А, что соответствует данным об их вкладе в структуру детских ОРИ [Орлова С.В., 2009]. IgG к вирусу гриппа типа В выявлены у 61,5% детей, к вирусу парагриппа 3 – у 53,8%. Несколько реже определялись IgG к парагриппу 1 и 2. Результаты исследования, сопоставимы с данными многолетнего эпидемиологического наблюдения [Замахина Е.В., 2009], что указывает на однородность экспериментальных групп по этиологической структуре ОРИ.

В 1 и 2 клинических группах в плазме крови определяли содержание кортизола, общего холестерина (ОХС), ХС ЛПВП, ТГ, ХС ЛПОНП, ХС ЛПНП, содержание апо-В и апо-А, фосфолипидные классы ЛПВП (лизофосфатиды (ЛФ), сфингомиелины (СФМ), фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилэтаноламины (ФЭА) и полиглицерофосфатиды (ПГФ)), содержание Ig G, М, А. Определяли содержание ОХС, ТГ, белка, ПНЖК в нативных ЛПК крови. Исследовали содержание CD3+, CD4+, CD8+, фагоцитарную активность нейтрофилов по фагоцитарному числу (ФЧ) и фагоцитарному индексу (ФИ). Определяли содержание рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови. В 3 - 6 клинических группах в плазме крови определяли: содержание кортизола, Т3, Т4, ОХС, ХС ЛПВП, ТГ, ХС ЛПОНП и ХС ЛПНП, количество иммуноглобулинов G, М, А.

Содержание кортизола, Т3, Т4 в крови определяли радиоиммунными наборами УП «Хозрасчетное опытное производство Института биоорганической химии» НАН Беларуси. Содержание кортизола при повторном обследовании в группах 1 и 2, иммуноглобулинов G, М, А определяли ИФА наборами ОАО «Вектор-бест» (Российская Федерация) на анализаторе Ф300 ТП (РУПП «Витязь», Беларусь). Иммунологический статус исследовали в реакции розеткообразования с эритроцитами барана: определяли Т-лимфоциты общие (Т об), активные (Такт), хелперы (Тх), супрессоры (Тс). Рассчитывали соотношение Такт/Тоб. Фагоцитарную активность нейтрофилов оценивали по поглощению зимозана и выражали фагоцитарным индексом (ФИ) и фагоцитарным числом (ФЧ). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) определялся как соотношение Тх/Тс. CD3+, CD4+, CD8+ определяли с помощью проточной цитометрии на проточном цитометре Beckman Coulter Cytomic FC 500 (США). Концентрацию ОХС, ХС ЛПВП и ТГ крови определяли с использованием наборов фирмы Cormay-Diana (СП Беларусь-Польша). Содержание ХС ЛПОНП рассчитывали по В. Rifling. Содержание ХС ЛПНП рассчитывали по разнице концентрации ОХС и суммы ХС ЛПВП и ХС ЛПОНП. Содержание апо-В и апо-А оценивали турбидиметрически коммерческими наборами «Dialab» (Польша). Фосфолипидные классы ЛПВП, полученных после осаждения апо-В содержащих ЛПК (ЛФ, СФМ, ФХ, ФЭА и ПГФ), определяли методом тонкослойной хроматографии [Кейтс М., 1975] и выражали в %. Удельное процентное содержание ЛФ рассчитывали по формуле

(%ЛФ/[апо-А])*100. Нативные ЛПК (ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП) выделяли на ультрацентрифуге «OptimaLE 80K» Beckman (США) с использованием ротора 50.4Ti при 40000 оборотах в минуту [Lindgren F.T., 1975]. В нативных ЛПК определяли количество белка по Лоури. Содержание ОХС, ХС ЛПВП и ТГ определяли аналогично плазме крови. Экстракцию фосфолипидов проводили смесью хлороформ/метанол (2:1 по объему) с последующим разделением методом тонкослойной хроматографии [Кейтс М., 1975]. Идентификацию классов фосфолипидов проводили по Rf стандартных образцов (Sigma). Количество общих фосфолипидов (ОФЛ) определяли по неорганическому фосфату [Покровский А.А., 1969]. Спектр жирных кислот нативных ЛПОНП определяли на газовом хроматографе ThermoFisherScientific (США) по площади их пиков и времени удержания метиловых эфиров стандартов жирных кислот (Sigma). Количество рецепторов к кортизолу в суспензии лейкоцитов определяли на проточном цитометре CytomicsFC 500 с использованием моноклональных антител SI GR-45.25 (тест-система «Биоскан-М1» «ОДО научно-исследовательское коллективное предприятие Ресан», г. Витебск).

Статистическую обработку данных производили с помощью программы STATISTICA 10RUS, лиц. № sta999K34156W, принадлежит учреждению образования «Витебский государственный медицинский университет». Были использованы следующие методы: анализ частотных гистограмм, описательная статистика, расчет коэффициента корреляции Пирсона, Спирмена, непараметрического анализа по Манну-Уитни для независимых групп и Вилкоксона для зависимых данных, t-критерий Стьюдента, методы кластерного, дисперсионного и дискриминантного анализа. Для выбора метода анализа проводили оценку соответствия вида распределения признака закону нормального распределения (с использованием критерия Шапиро-Уилка) и равенства дисперсий (с использованием F-критерия).

Результаты собственных исследований

Основные показатели содержания кортизола крови и системы иммунитета у ЧБД в интерморбидный период. Установлено, что в группе ЧБД в интерморбидный период содержание кортизола было больше на 19,5%, чем в группе ЭБД ($518,7 \pm 125,6$ и $434 \pm 102,9$ нмоль/л соответственно, $p=0,035$).

Оценка показателей ИС показала, что у ЧБД достоверно снижены ФИ и ФЧ ($p<0,0001$), увеличено отношение CD4/CD8 ($p=0,028$), IgG, IgM и IgA, что может быть обусловлено повышенным содержанием кортизола [Пыцкий В.И., 1984; Новиков Д.К., 2006; Grason J., 1981]. Наличие зависимости ИС от кортизола подтверждается отличиями корреляционных взаимосвязей ряда показателей ИС и кортизола у ЧБД и ЭБД. У ЭБД установлена средней силы статистически значимая связь кортизола с отношением CD4/CD8 (при содержании кортизола в интервале 280-560 нмоль/л имеется четкая линейная прямая зависимость с высокой степенью достоверности – $r=0,6138$, $p=0,026$), а

также сильные высоко значимые прямые связи Ig G-Ig A ($r=0,7904$, $p=0,002$) и Ig G-Ig M ($r=0,6271$, $p=0,029$). Здесь же наблюдается средней силы близкая к значимой прямая связь Ig A и Ig M ($r=0,5526$, $p=0,062$). У ЧБД исчезает взаимосвязь CD4/CD8-кортизол. При возрастании количества кортизола в интервале 300-700 нмоль/л не наблюдается «отклика» CD4/CD8.

Основные показатели липидтранспортной системы крови часто болеющих детей в интерморбидном периоде. Результаты исследования ЛТС крови ЧБД и ЭБД, представлены в таблице 1. У ЧБД отмечено повышенное содержание ОХС за счет ХС ЛПНП и сниженное содержание ХС ЛПВП ($p=0,00055$, $0,00004$, $0,047$ соответственно), что характерно для увеличения содержания кортизола [Whitworth J.A., 2005 и др.].

Таблица 1. - Показатели липидтранспортной системы у ЭБД и ЧБД ($p<0,05$).

	ЭБД (n=44), М±σ	ЧБД (n=74), М±σ
ОХС (ммоль/л)	4,2±0,81	5,07±0,96
ХСЛПВП (ммоль/л)	1,44±0,3	1,26±0,3
ХСЛПНП (ммоль/л)	2,38±0,77	3,38±0,9
Апо-В (мг/дл)	95,15±22,25	118,8±19,8
Апо-А (мг/дл)	179±28,4	227±35,7
%ЛФ/апоА*100	9,7± 2,4	5,7± 1,9

Повышенная концентрация апо-А и апо-В у ЧБД ($p=0,0019$, $0,015$ соответственно) также согласуется с эффектами кортизола [Martin-Sanz P, 1990]. Высокое содержание апо-А потенцирует действие кортизола [Панин Л.Е., 1992], что могло быть причиной указанных ранее изменений корреляционных связей. Процентное содержание ЛФ в ЛПВП в пересчете на апо-А у ЧБД было статистически значимо ниже ($p<0,05$), чем в группе ЭБД, что так же согласуется со способностью кортизола ингибировать фосфолипазу А₂.

Оценка состава нативных ЛПОНП показала, что в группе ЧБД содержание ТГ было ниже, чем у ЭБД ($p=0,029$), при этом содержание белка превалировало в группе ЭБД ($p=0,038$). Учитывая способность белков ЛПОНП активировать липолитические ферменты плазмы, выявленные отличия могут обуславливаться снижением активности продукции ТГ ЛПОНП в печени ЧБД и, как следствие, приводить к нарушению поставки пальмитиновой кислоты в легкие, нарушению продукции основного фосфолипида сурфактанта легких дипальмитоилфосфатидилхолина и, тем самым, снижать резистентность к ОРИ.

В нативных ЛПНП ЧБД содержание белка и ТГ были ниже, чем у ЭБД ($p=0,032$ и $0,004$ соответственно), что может изменять захват ЛПНП и модифицировать финальный этап транспорта липидов.

Спектр жирных кислот нативных липопротеиновых комплексов крови ЧБД. В ЛПОНП у ЧБД по сравнению с ЭБД статистически значимо снижено процентное содержание пальмитиновой кислоты (С16:0) ($p=0,001$) и увеличено процентное содержание олеиновой кислоты (С18:1) ($p=0,035$), что

привело к достоверным изменениям в соотношении С16/Σ(МНЖК и ПНЖК) и С16/С18:1 ($p=0,0015$ и $0,002$ соответственно). Такие отличия подтверждают предположение о снижении активности синтеза ТГ ЛПОНП в печени, возможности снижения продукции дипальмитоилфосфатидилхолинов и повышения восприимчивости к ОРИ.

Корреляционный анализ у ЧБД выявил зависимости, характерные для активации синтеза провоспалительной [Wang X., 2012] мидовой (С20:3n9) кислоты (прямую зависимость между С16:0 и эйкозатриеновой кислотой (С20:3) ($r=0,726$) и обратные зависимости между С16:0 и С18:1 ($r=-0,927$), С18:1, линолевой (С18:2) и линоленовой (С18:3) кислотами ($r=-0,754$ и $0,900$ соответственно). В группе ЭБД отмечены иные зависимости. Содержание С20:3 отрицательно коррелировало с количеством ХС ЛПОНП ($r=-0,691$), что может быть связано с противовоспалительной активностью дигомо-γ-линоленовой кислоты (С20:3n6), и возможным её комбинированным действием с другими ПНЖК на активность ОМГ-редуктазы [Undurti N., 2008]. Учитывая способность ω3 и ω6 ПНЖК тормозить синтез ПНЖК ω9 ряда [Мари Р., 1993], выявленные обратные связи между С16:0 и С18:3 ($r=-0,684$), С18:1 и С18:2 ($r=-0,733$), С18:1 и С18:3 ($r=-0,733$), а так же прямая зависимость между С18:2 и С18:3 ($r=0,757$) свидетельствует о сохранении метаболических связей между эссенциальными ПНЖК ω3 и ω6 ряда и синтезирующимися эндогенно ПНЖК ω9 ряда у ЭБД.

Лабораторные маркеры отнесения к группе диспансерного наблюдения «ЧБД». Поиск наиболее значимых метаболических маркеров ЧБД проводился в несколько этапов. На первом этапе сравнивались средние значения параметров и их стандартные ошибки у ЧБД и ЭБД. Статистически значимые отличия имели показатели ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, а также кортизола. Учитывая вариабельность изученных показателей, проведен кластерный анализ по методу Варда с Манхэттенской метрикой [Боровиков В.П., 2001], выявивший по три кластера в обеих группах. Для выбора наиболее информативных и взаимодополняющих параметров на следующем этапе проведен дискриминантный анализ, позволивший, классифицировать с высокой степенью надежности 82,1% исследуемых объектов (статистическая ошибка расчетной модели составила 0,007 при F-критерии 4,7371). В модель вошли ХС ЛПНП, ХС ЛПВП и кортизол (таблица 2).

Классификационная функция при этом имела вид:

$$ИП_{ЧБД} = 4,0356 * ХСЛПНП + 15,0623 * ХСЛПВП + 0,0247 * кортизол - 23,5522;$$

$$R^2 = 0,88$$

$$ИП_{ЭБД} = 3,4036 * ХСЛПНП + 17,4452 * ХСЛПВП + 0,0195 * кортизол - 22,6992;$$

$$R^2 = 0,73$$

где $ИП_{ЧБД}$ и $ИП_{ЭБД}$ – интегральные показатели для исследуемых групп.

Таблица 2. - Обоснование классификационной модели разделения на группы ЭБД и ЧБД по параметры липидтранспортной системы и кортизола

N = 39	Итоги анализа дискриминантных функций Лямбда Уилкса: 0,71122 прилб. F (3,35) = 4,7371 p < ,0071					
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	F-исключ. (1,35)	p-уровень	Толер.	1-толер (R ²)
ХСЛПНП, ммоль/л	0,756039	0,940716	2,205696	0,146454	0,862304	0,137696
ХСЛПВП, ммоль/л	0,779354	0,912574	3,353064	0,075604	0,926689	0,073311
Кортизол, нмоль/л	0,756540	0,940093	2,230375	0,144282	0,899579	0,100421

Отнесение детей к группе ЧБД проводится по вышеприведенным формулам дискриминантного анализа. Апостериорное перераспределение объектов по группам ЭБД и ЧБД показало, что те дети, которые по формулам дискриминантного анализа перешли в другую группу, были исключены из последующего этапа определения уровней информационно значимых показателей для расчета эталонных средних значений. Вновь полученные расчетные значения представлены в таблице 3.

Таблица 3. - Критерии отнесения детей к группам эпизодически и часто болеющих по показателям содержания кортизола, ХСЛПВП и ХСЛПНП.

Показатели	Группа эпизодически болеющих детей	Группа часто болеющих детей
ХС-ЛПВП, ммоль/л	более 1,3	менее 1,3
ХС-ЛПНП, ммоль/л	1,9-2,4	более 3,2
Кортизол, нмоль/л	339,4-472,7	более 481,1

Полученная таблица может служить ориентиром для априорного отнесения детей к группе ЧБД при условии соответствия всех показателей одной из групп. При содержании ХС-ЛПНП в интервале 2,5-3,1 ммоль/л и кортизола в интервале 472,8-481,0 нмоль/л, детей следует относить к группе повышенного риска ЧБД и их необходимо обследовать повторно.

Чувствительность метода составила 87,5%, специфичность – 73,3%.

Изменение содержания рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови во взаимосвязи с содержанием кортизола крови ЧБД в интерморбидный период. В группе ЧБД содержание рецепторов кортизола (GR) достоверно ниже, чем у ЭБД (p=0,0003) на фоне неизменного содержания кортизола крови. Отношение кортизол/рецепторы достоверно выше у ЧБД чем у ЭБД (p=0,00003), что может являться косвенным признаком снижения чувствительности рецепторов к кортизолу в группе ЧБД (таблица 4).

Таблица 4. - Количество кортизола в крови, рецепторов в клетках лимфоцитарного ряда и их соотношение, Me (P25...P75)

	Кортизол, нмоль/л	GR, %	Кортизол/GR
ЧБД (n=25)	606,46 (494,2...754,3)	43,11 (36,3...46,3)	15,08 (11,3...20,6)
ЭБД (n=12)	590,2 (488,9...668,6)	59,66 (53,6...65,8)	9,95 (8,4...10,8)
p	>0,05	0,0003	0,00003

Двухэтапный кластерный анализ содержания кортизола и его рецепторов у ЧБД разделил их на 2 кластера. Дисперсионный анализ этих кластеров по содержанию кортизола и его рецепторов выявил достоверные отличия между 1-м и 2-м кластерами по содержанию кортизола. При этом достоверно более высокое содержание кортизола было во 2-м кластере ЧБД в сравнении с ЭБД ($p < 0,0001$).

Оценка отличий взвешенных средних количества рецепторов к кортизолу показала более низкое их содержание у ЧБД, чем у ЭБД при отсутствии отличий между кластерами ЧБД. Количество кортизола в 1-м кластере ЧБД не отличалось от такового в группе ЭБД, и являлось статистически значимо более низким, чем во 2-м кластере. При этом отношение кортизол/GR было статистически значимо выше в 1-м кластере ЧБД по сравнению с ЭБД ($p = 0,016$). Во втором кластере ЧБД это отношение было достоверно выше, чем у ЭБД и в 1-м кластере ЧБД ($p = 0,000003$ и $0,0063$ соответственно).

Однофакторный дисперсионный анализ на трех уровнях с последующим апостериорным сравнением зависимой переменной, в качестве которой выступило абсолютное соотношение изученных показателей, показал, что значения F-критерия Фишера имели высокую статистическую значимость. Доля влияния независимой переменной (группа-кластер) на модель составила 94,1%. В результате пошагового дискриминантного анализа с использованием в качестве дополнительных переменных количества ХС и ТГ ЛПК крови в априорную прогностическую модель дифференцировки ЧБД от ЭБД отобрана только одна переменная – содержание общих рецепторов к кортизолу. Полученная модель позволила классифицировать наблюдаемые объекты с надежностью 87,8%, при этом с наибольшей вероятностью дифференцируются ЧБД с низким содержанием кортизола (91,7%). Указанные показатели использованы для создания алгоритма лабораторного обоснования продолжения наблюдения детей 3–7 лет в группе диспансерного наблюдения «ЧБД». По содержанию рецепторов к кортизолу составлена нелинейная логистическая модель отнесения детей с низким содержанием кортизола к группе ЧБД. Чувствительность модели составила 83,3%, специфичность – 91,7%.

Прогностическая логистическая модель описывается уравнением:

$$y = \exp(12,7051 + (-0,2558) * x) / (1 + \exp(12,7051 + (-0,2558) * x));$$

где x – уровень содержания общих рецепторов к кортизолу, %.

ROC-анализ расчетных регрессионных данных показал, что регрессия правильно описывает 94,4% всех наблюдений ($p < 0,001$). Квартильный анализ ранжированных данных соотношения кортизол/рецепторы выявил точки отнесения к группам ЧБД или ЭБД (таблица 5).

Таблица 5. - Эталонные значения рассчитанных показателей кортизола и соотношения показателей кортизола и общих рецепторов к кортизолу.

Группа наблюдения	Показатель соотношения	Характеристика риска заболеваемости	Рекомендации по диспансерному наблюдению
ЭБД	до 13,5	Приемлемый риск заболеваемости ОРИ	практически здоровые – 1-я группа диспансерного наблюдения
ЧБД с уровнем кортизола до 670 нмоль/л	более 13,5	Повышенный риск заболеваемости ОРИ	2 группа диспансерного наблюдения (ЧБД)
ЧБД с уровнем кортизола свыше 670 нмоль/л	свыше 18,9	Высокий риск заболеваемости ОРИ	

Основные показатели иммунной, липидтранспортной системы и содержание кортизола у ЧБД при заболевании ОРИ. ОРИ у ЧБД статистически значимо ($p=0,045$) снижает количество кортизола по сравнению с интерморбидным периодом. В группе ЭБД при развитии ОРИ, по сравнению с интерморбидным периодом, достоверно увеличивается содержание ОХС за счет ХС ЛПНП ($p=0,047$), при этом содержание кортизола не меняется, что характерно для воспалительных процессов, при которых ухудшается элиминация ЛПНП из кровотока [Nigon F., 1991; DeSanctis J.P., 1998]. Показатели ЛТС и количество кортизола крови ЧБД и ЭБД при ОРИ не отличались, что говорит о наличии у ЧБД в интерморбидный период профиля ЛТС и количества кортизола, характерных для ЭБД при ОРИ. Анализ показателей СИ показал, что у ЭБД количество IgG и IgA при ОРИ было выше по сравнению со здоровыми ЭБД, что может быть защитной реакцией на развитие инфекционного процесса. У ЧБД при ОРИ снижалось количество IgA ($p=0,028$) по сравнению с ЧБД в интерморбидном периоде. Сравнение содержания Ig у ЧБД и ЭБД при ОРИ выявил достоверно более низкое содержание IgA у ЧБД ($p=0,03$), что согласуется с эффектами снижения содержания кортизола [Grason G., 1981].

Особенности функционирования эндокринной, липидтранспортной систем у ЧБД при ОРИ, протекающих с поражением нижних отделов

респираторного тракта. Поражение нижних отделов респираторного тракта у ЧБД приводит к снижению содержания ХС ЛПНП и повышению количества ХС ЛПОНП и ТГ ($p=0,018$, $0,001$, $0,001$ соответственно) по сравнению с интерморбидным периодом. Количество кортизола остаётся достоверно ниже, чем в интерморбидный период ($p=0,00001$). Полученная картина согласуется с результатами экспериментальной адреналэктомии [Титов В.Н., 1978].

У ЭБД утяжеление ОРИ сопровождалось лишь ростом содержания ХС ЛПОНП и ТГ по сравнению с интерморбидным периодом ($p=0,019$), что характерно для воспалительных процессов [Khovidhunkit W., 2000]. При этом содержание кортизола было достоверно выше, чем в аналогичной группе ЧБД.

Содержание кортизола у ЧБД и ЭБД в остром периоде внегоспитальной пневмонии средней степени тяжести характерно для групп в целом: кортизол ЭБД составил $493,13 \pm 207,96$ нмоль/л, ЧБД – $312,37 \pm 146,95$ нмоль/л ($p=0,045$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Ключевую роль в формировании повышенной восприимчивости ЧБД к ОРИ играют количество кортизола крови и его рецепторов в лейкоцитах. Содержание кортизола крови у ЧБД в интерморбидном периоде на 19,5% выше, чем у ЭБД ($p=0,035$). Группа ЧБД неоднородна и разделена на 2 кластера: с повышенным содержанием кортизола крови и не отличающимся от нормальных значений. Количество рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови детей группы «ЧБД» ниже на 27,74%, чем у ЭБД ($p=0,0003$, $0,00003$ соответственно). Соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу у ЧБД выше, чем у ЭБД на 51,5% ($p=0,00003$) [2, 6, 7, 9, 13, 14, 16, 17, 18].

2. Изменение содержания кортизола и его ядерных рецепторов у ЧБД сопровождается сдвигами клиничко-лабораторных показателей ЛТС. ЧБД по сравнению с ЭБД характеризуются повышенным содержанием апо-А ($227 \pm 35,7$ и $179 \pm 28,4$ мг/дл соответственно, $p=0,0019$), апо-В ($118,8 \pm 19,8$ и $95,15 \pm 22,25$ мг/дл соответственно, $p=0,015$), ОХС крови ($5,07 \pm 0,96$ и $4,2 \pm 0,81$ ммоль/л соответственно) за счет ХС ЛПНП ($3,38 \pm 0,9$ и $2,38 \pm 0,77$ ммоль/л соответственно), более низким содержанием ХС ЛПВП ($1,26 \pm 0,3$ и $1,44 \pm 0,3$ ммоль/л соответственно), содержанием лизофосфатидов ЛПВП в пересчете на апо-А ($5,7 \pm 1,9$ и $9,7 \pm 2,4$ соответственно), ($p < 0,05$). В нативных ЛПОНП и ЛПНП часто болеющих детей содержание ТГ и белка ниже, чем у ЭБД. В ЛПОНП процентное содержание пальмитиновой кислоты ниже ($43,92 \pm 3,19\%$ и $56,85 \pm 9,62\%$ соответственно), а олеиновой – выше ($32,66 \pm 12,13\%$ и $19,29 \pm 8,14\%$ соответственно), чем у ЭБД. Часто и эпизодически болеющие дети по жирнокислотному спектру ЛПОНП имеют различные взаимозависимости. Изменение содержания кортизола и его ядерных рецепторов у ЧБД сопровождается сдвигами показателей СИ. У ЧБД в интерморбидном периоде

более низкие показатели фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса ($p < 0,0001$), более высокое содержание иммуноглобулинов G ($p < 0,0001$), M ($p = 0,01$), A ($p = 0,01$), соотношение CD4/CD8 ($p = 0,028$) по сравнению с ЭБД. Полученные результаты характеризуют особенности метаболического статуса ЧБД, предрасполагающие к повышенной восприимчивости к возбудителям ОРИ [3, 5, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17].

3. На основании установленных отличий в показателях ЛТС и содержании кортизола крови разработана модель разделения на группы ЧБД и ЭБД (чувствительность 87,5%, специфичность – 73,3%). Кортизол крови, холестерол ЛПНП и холестерол ЛПВП являются маркерами отнесения к группе диспансерного наблюдения «ЧБД» с пороговыми значениями кортизола крови – 481,1 нмоль/л, ХС ЛПВП – 1,3 ммоль/л, ХС ЛПНП – 3,2 ммоль/л. На основании разработанной модели разработан, обоснован и внедрен в клиническую практику «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» [19]. Соотношение кортизол/рецепторы к кортизолу лейкоцитов крови является маркером индивидуальной предрасположенности к острым респираторным инфекциям. Показатель использован для разработки прогностической модели определения индивидуального риска развития ОРИ у детей (чувствительность – 83,3%, специфичность – 91,7%) и инструкции по применению «Метод оценки индивидуального риска острых респираторных инфекций у детей» [4, 6, 7, 20].

4. Доля заболеваемости детского населения ОРИ по Витебской области за 10 лет наблюдения составила от 49,48% до 55,23% от общей заболеваемости ОРИ. ОРИ, сопровождаются разнонаправленными сдвигами в эндокринной и иммунной системах у ЧБД и ЭБД. ОРИ у ЧБД вызывают снижение содержания кортизола крови ($p = 0,045$), Ig A ($p = 0,028$) по сравнению с интерморбидным периодом и отсутствие реакции ЛТС. У ЭБД выявлено статистически значимое увеличение содержания ОХС ($p = 0,047$) за счет ХС ЛПНП ($p = 0,047$), повышение содержания Ig A ($p = 0,03$) и G ($p < 0,0001$) и отсутствие изменений содержания кортизола. Содержание Ig A при ОРИ у ЧБД ниже, чем у ЭБД ($p = 0,03$). Развитие инфекционного поражения нижних отделов респираторного тракта вызывает изменения ЛТС и ЭС у ЧБД (снижение содержания кортизола ($p = 0,00001$), ХС ЛПНП ($p = 0,018$), увеличение – ХС ЛПОНП ($p = 0,001$) и ТГ ($p = 0,001$), характерные для воспалительного процесса более высокой интенсивности. У ЭБД повышается содержание ХС ЛПОНП ($p = 0,019$) и ТГ ($p = 0,019$) по сравнению с интерморбидным периодом. Содержание кортизола у ЭБД ($432,1 \pm 141,9$ нмоль/л) было выше, чем у ЧБД ($330,3 \pm 139,3$ нмоль/л) [1, 8, 10]. Полученные данные обосновывают необходимость дифференцированных подходов к лечению ОРИ у ЧБД и ЭБД.

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При возникновении повторных ОРИ в течение года у детей дошкольного возраста целесообразно исследовать у них в интерморбидном периоде содержание ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, кортизола крови с целью раннего и объективного отнесения в группу диспансерного наблюдения «ЧБД» и назначения адекватного комплекса реабилитационных и профилактических мероприятий [4]. На основании полученных результатов разработана инструкция по применению «Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» [19], которая утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 123-1114 от 27.11.14) и внедрена в учреждении здравоохранения «Витебский областной детский клинический центр».

2. С целью объективизации снятия с диспансерного учета детей группы «ЧБД» рекомендуется исследовать содержание кортизола и рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови с последующим вычислением их соотношения и сравнением с эталонными значениями в соответствии с разработанной инструкцией по применению «Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей» [7, 20], утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 140-1115 от 27.11.15).

3. Полученные результаты исследования иммунной, эндокринной, липидтранспортной систем ЧБД в интерморбидном периоде рекомендуются для дальнейшей разработки методов профилактики повторных ОРИ у ЧБД. Результаты могут быть использованы врачами-педиатрами в учреждениях здравоохранения первичного звена оказания медицинской помощи с целью оптимизации диспансеризации детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями, а также эпидемиологами центров гигиены и эпидемиологии для разработки и коррекции плана профилактических мероприятий в детских коллективах [3, 5, 6].

4. При выборе тактики и способов лечения ОРИ (в том числе протекающих с поражением нижних отделов респираторного тракта) рекомендуется учитывать наличие различий в реакции ЭС, ИС и ЛТС у ЧБД и ЭБД, что определяет необходимость дальнейшей разработки методов лечения ОРИ у ЧБД [8].

5. Рекомендуется исследование полиморфизма генов, кодирующих рецепторы к кортизолу, для выявления причин феномена «ЧБД».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА

Статьи в рецензируемых научных журналах

1. Голюченко, О.А. Вопросы эпидемиологии и профилактики острых респираторных инфекций в Республике Беларусь / **О.А. Голюченко**, В.М. Семенов // Вестник ВГМУ. – 2007. - №4. –Т.6. – С. 121-127.
2. Голюченко, О.А. Особенности функционирования и взаимосвязь иммунной и липидтранспортной систем у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Вестн. ВГМУ. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 36–42.
3. Голюченко, О.А. Повышенное содержание кортизола у часто болеющих детей как фактор, увеличивающий восприимчивость к острым респираторным инфекциям / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Клин. лаб. диагностика. – 2010. – № 12. – С. 14–16.
4. Осочук, С.С. Клинико-лабораторные критерии отнесения детей к диспансерной группе часто болеющих / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, **О.А. Голюченко** // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 3. – С. 21–23.
5. Осочук, С.С. Состав липопротеинов очень низкой плотности детей, часто болеющих респираторными инфекциями / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко** // Лаб. диагностика. Восточ. Европа. – 2014. – № 4 (12). – С. 120–127.
6. Гормональная неоднородность детей группы диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко**, Г.Д. Коробов, Г.И. Юпатов, И.О. Астапович // Лаб. диагностика. Восточ. Европа. – № 2 (14). – 2015. – С. 56–62.
7. Голюченко, О.А. Обоснование метода оценки индивидуальной предрасположенности к острым респираторным инфекциям детей группы диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / **О.А. Голюченко** // Вестн. ВГМУ. – 2015. – Том 14, № 5. – С. 78–86.
8. Голюченко, О.А. Некоторые особенности эндокринной, иммунной, липидтранспортной систем часто болеющих детей при острых респираторных инфекциях / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2015. – №4. – С. 54–57.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

9. Осочук, С.С. Некоторые показатели иммунной и липидтранспортной системы часто болеющих детей / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко** // Достижения медицинской науки Беларуси: сб. науч. ст. — Минск: ГУ РНМБ, 2009. — Вып. XIV. – С. 163-164.
10. Особенности функционирования эндокринной, иммунной и липидтранспортной системы детей, часто болеющих респираторными инфекциями / С.С. Осочук, **О.А. Голюченко**, Н.В. Бресская, Е.В. Авсюк, Т.Л. Кудряшова, Л.Н. Данилова // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2009. – С. 512–516.

11. Голюченко, О.А. Кортизол как фактор повышенной восприимчивости к острым респираторным инфекциям у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 65-й науч. сес. сотр. ун-та, 24–25 марта 2010 г. – Витебск : ВГМУ, 2010. – С. 258–260.

12. Голюченко, О.А. Некоторые особенности состава липопротеиновых комплексов детей часто болеющих острыми респираторными инфекциями / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, Н.И. Телятицкий // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 66-й науч. сес. сотр. ун-та, 27–28 янв. 2011 г. – Витебск : ВГМУ, 2011. – С. 124–125.

13. Голюченко, О.А. Содержание рецепторов к кортизолу в лейкоцитах крови у детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, И.О. Астапович // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-й науч. сес. сотр. ун-та, 28–29 янв. 2015 г. – Витебск : ВГМУ, 2015. – С. 27–28.

Тезисы докладов

14. Голюченко, О.А. Отличия липидтранспортной и иммунной систем часто и длительно болеющих мальчиков и девочек в состоянии ремиссии / **О.А. Голюченко** // Труды молодых ученых 2009. – Минск : БГМУ, 2009. – С. 42–45.

15. Голюченко, О.А. Сравнительная характеристика функционирования липидтранспортной системы часто болеющих острыми респираторными инфекциями детей северных и южных регионов Беларуси / **О.А. Голюченко** // Студенческая медицинская наука XIX века : материалы X междунар. науч.-практ. конф., 4–5 нояб. 2010 г. – Витебск, 2010. – С. 187–188.

16. Голюченко, О.А. Разбалансировка регуляции синтеза и рецепции кортизола как фактор повышенной восприимчивости к острым респираторным инфекциям у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко**, С.С. Осочук, Г.Д. Коробов // Аллергология и иммунология. – 2011. – Т. 12, № 1. – С. 150.

17. Голюченко, О.А. Патогенетические механизмы повышенной восприимчивости часто болеющих детей к возбудителям острых респираторных инфекций / **О.А. Голюченко** // Студенческая медицинская наука XXI века, посвященная 80-летию образования ВГМУ : материалы XIV междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 23–24 окт. 2014 г. – Витебск : ВГМУ, 2014. – С. 141–143.

18. Голюченко, О.А. Роль некоторых вирусов в этиологической структуре острых респираторных инфекций у часто болеющих детей / **О.А. Голюченко** // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. – Витебск : ВГМУ, 2014. – С. 136–138.

Инструкции по применению

19. Метод отнесения детей дошкольного возраста к группе диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, О.А. Голюченко. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 123-1114. – Минск, 2014. – 5 с.

20. Метод оценки индивидуального риска развития острых респираторных инфекций у детей / С.С. Осочук, Г.Д. Коробов, О.А. Голюченко, Г.И. Юпатов. – Инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, рег. № 140-1115. – Минск, 2015. – 3 с.

РЭЗІЮМЭ

Галючэнка Вольга Анатольеўна

Узаемасувязь эндакрыннай, імуннай і ліпідтранспартнай сістэмаў у дзяцей, якія часта хварэюць вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі

Ключавыя словы: вострыя рэспіраторныя інфекцыі, часта хварэючыя дзеці (ЧХД), картызол, ліпідтранспартная сістэма.

Мэта работы: устанавіць патагенетычныя асаблівасці эндакрыннай, ліпідтранспартнай і імуннай сістэм, якія вызначаюць павышаную схільнасць дзяцей да вострых рэспіраторных інфекцый, і на іх грунце распрацаваць метады аднясення ў групу дыспансэрнага назірання «ЧХД».

Метады даследавання: клінічны, імуналагічны, біяхімічны, радыяімуны, імунаферментны, працэкавая цытаметрыя, танкаслойная і газавая храматаграфія, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: ІФА-аналізатар «Віцязь» Ф 300 ТП, працэкавы цытометр Beckman Coulter Cytomic FC 500, ультрацэнтрыфуга «OptimaLE 80K», цэнтрыфугі PC-6, T-23, біяхімічны аналізатар ScreenMaster, газавы храматограф FocusGC, γ-лічыльнік «Vizard».

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню вызначаны малекулярна-біялагічныя асаблівасці, якія ляжаць у аснове павышанай схільнасці дзяцей да частых рэспіраторных інфекцый. Выяўлена павышэнне ўтрымання картызолу крыві, зніжэнне ўтрымання яго рэцэптараў у лейкоцытах крыві, павышэнне суадносін картызол/рэцэптары ў інтэрмарбідны перыяд у часта хварэючых дзяцей у параўнанні з эпізадычна хварэючымі. Упершыню паказана наяўнасць дзвюх падгруп у групе ЧХД па ўтрыманні картызолу. Вызначаны змены паказнікаў ліпідтранспартнай, імуннай і эндакрыннай сістэм у іх узаемасувязі ў ЧХД як у інтэрмарбідны перыяд, так і пры вострых рэспіраторных інфекцыях з розным узроўнем паражэння рэспіраторнага тракта).

Распрацаваны аб'ектыўныя крытэрыі аднясення дзяцей дашкольнага ўзросту да групы часта хварэючых вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі, а таксама метады ацэнкі індывідуальнай рызыкі вострых рэспіраторных інфекцый у дзяцей».

Рэкамендацыі па выкарыстанні: Распрацоўка метадаў прафілактыкі паўторных вострых рэспіраторных інфекцый у ЧХД. Аптымізацыя дыспансэрызацыі дзяцей, якія часта хварэюць вострымі рэспіраторнымі інфекцыямі, распрацоўка і карэкцыя плана прафілактычных мерапрыемстваў у дзіцячых калектывах.

Вобласць ужывання: інфекцыйныя хваробы, педыятрыя, гігіена і эпідэміялогія.

РЕЗЮМЕ

Голюченко Ольга Анатольевна

Взаимосвязь эндокринной, иммунной и липидтранспортной систем у детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями

Ключевые слова: острые респираторные инфекции (ОРИ), часто болеющие дети (ЧБД), кортизол, липидтранспортная система.

Цель работы: установить патогенетические особенности эндокринной, липидтранспортной и иммунной систем, определяющие повышенную восприимчивость детей к острым респираторным инфекциям, и на их основе разработать объективный метод отнесения в группу диспансерного наблюдения «часто болеющие дети».

Методы исследования: клинический, иммунологический, биохимический, радиоиммунный, иммуноферментный, проточная цитометрия, тонкослойная и газовая хроматография, статистический.

Использованная аппаратура: ИФА-анализатор «Витязь» Ф 300 ТП, проточный цитометр Beckman Coulter Cytomic FC 500, ультрацентрифуга «OptimaLE 80К», центрифуги PC-6, T-23, биохимический анализатор ScreenMaster, газовый хроматограф FocusGC, γ -счетчик «Vizard».

Полученные результаты и их новизна. Впервые определены молекулярно-биологические особенности, лежащие в основе предрасположенности детей к частым респираторным инфекциям. Установлено повышение содержания кортизола крови, снижение содержания рецепторов к нему в лейкоцитах крови, повышение соотношения кортизол/рецепторы у часто болеющих детей в интерморбидном периоде по сравнению с эпизодически болеющими. Впервые показано наличие двух подгрупп в группе ЧБД по содержанию кортизола. Определены изменения показателей эндокринной, липидтранспортной, иммунной систем в их взаимосвязи у часто болеющих детей как в интерморбидный период, так и при острых респираторных инфекциях с различным уровнем поражения респираторного тракта. Разработаны объективные критерии отнесения детей дошкольного возраста к группе часто болеющих острыми респираторными инфекциями, а также метод оценки индивидуального риска острых респираторных инфекций у детей

Рекомендации по использованию. Разработка методов профилактики повторных ОРИ у ЧБД. Оптимизация диспансеризации детей, часто болеющих острыми респираторными инфекциями, разработка и коррекция плана профилактических мероприятий в детских коллективах.

Область применения: инфекционные болезни, педиатрия, гигиена и эпидемиология.

SUMMARY

Golyuchenko Olga Anatolyevna

Interrelation of endocrine, immune and lipidtransport systems at the children who often have acute respiratory infections

Key words: acute respiratory infections, often ill children, cortisol, lipidtransport system.

Objective: To establish pathogenetic features of endocrine, lipidtransport and immune systems, those define increased susceptibility of children to acute respiratory infections and on their basis to develop objective method for reference in group of dispensary supervision.

Methods of research: clinical, immunological, biochemical, radioimmune, ELISA, flow cytometry, thin-layer and gas chromatography, statistical.

Equipment: "Vityaz" IFA-analyzer of F 300 TP, flow citometer Beckman Culter Cytomic FC 500, OptimaLE 80K ultracentrifuge, RS-6, T-23 centrifuges, biochemical ScreenMaster analyzer, FocusGC gas chromatograph, γ -counter ""Vizard".

Results and their novelty. Molecular and biological features that are lying at the base of children susceptibility to frequent respiratory infections were estimated for the first time. Increased content of blood cortisol, decreased content of cortisol receptors in blood leucocytes and increased cortisol/receptors ratio during the intermorbid period at often ill children compared with episodically ill were determined for the first time. Availability of two subgroups in often ill children group on content of cortisol was for the first time shown. Changes in indicators of lipidtransport, immune and endocrine systems in their interrelation at often ill children both during the intermorbid period, and in case of acute respiratory infections with different level of respiratory path defeat are for the first time determined. Objective criteria of reference of children of preschool age to group of often ill with acute respiratory infections and method of individual risk of acute respiratory infections at children were developed.

Recommendations for use: Development of methods of prevention of recurrent acute respiratory infections at often ill children. Optimization of medical examination of the children who often have acute respiratory infections, development and correction of the plan of preventive actions in children's collectives.

Application area: infectious diseases, pediatrics, hygiene and epidemiology.

Подписано в печать 11.01.17 г. Формат бумаги 60x84 1/16.
Бумага типографская №2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов 1,45.
Уч.-изд. л. 1,56. Тираж 60 экз. Заказ № 36.
Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Витебский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013 г.
Пр-т Фрунзе, 27, г. 210032, Витебск