

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

УДК616.211/.232-036.87-097+[577.115+577.122.7]

ПЕТРЕНКО
Татьяна Станиславовна

**КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОГО И
ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ИНФЕКЦИЯХ
ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Минск, 2015

Работа выполнена в учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Новикова Ирина Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Камышников Владимир Семенович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Лелевич Владимир Валерьянович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита диссертации состоится «10» марта 2015 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.15.02 при Государственном учреждении образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» по адресу: 220013 г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3. E-mail: natalkam@it.org.by; телефон ученого секретаря: 8(017)3400091.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Автореферат разослан « » _____ 2015 г.

Ученый секретарь совета по защите диссертаций



Мурашко Н. В.

ВВЕДЕНИЕ

Воздушно-капельный путь передачи респираторных инфекций и затрудняющее их лабораторную диагностику многообразие клинических проявлений, зависящее не только от особенности возбудителей, но и от состояния макроорганизма, послужили Европейскому региональному бюро ВОЗ основанием для отнесения их к группе болезней, которые определяют будущее инфекционной патологии в текущем столетии (Европейское региональное бюро ВОЗ, Копенгаген, 2013). Однако, несмотря на большое количество предложенных в последнее время новых методов диагностики и лечения, отмечается увеличение заболеваемости рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей (РИВДП), возрастание числа тяжелых форм течения заболевания во всем мире, в том числе и в Республике Беларусь.

Одной из причин частого рецидивирования инфекций верхних дыхательных путей является несостоятельность факторов общей реактивности организма, важную роль в поддержании которых играют процессы свободнорадикального окисления липидов биологических жидкостей и мембран клеток. Они вносят вклад в обеспечение метаболических реакций, необходимых для функционирования различных звеньев врожденного и приобретенного иммунитета (Шанин А.И., 2003, Дубинина Е.Е., 2006, Титов В.Н., 2010, Воробьева В.Н., 2013). С другой стороны, активация различных компонентов иммунной системы, столь характерная для воспалительных заболеваний инфекционной природы, не может не приводить к стимуляции процессов свободнорадикального (перекисного) окисления липидов. Поэтому исследование про-/антиоксидантной системы, ее взаимосвязей с показателями иммунореактивности и клиническими особенностями течения заболевания служит патохимическим обоснованием разработки более эффективных, чем существующие, лабораторных критериев мониторинга воспалительного процесса и контроля эффективности терапевтических мероприятий.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертация выполнена в рамках темы НИР «Разработка лабораторных критериев диагностики и контроля воспалительных заболеваний различной этиологии» (сроки выполнения 2012 – 2017 гг., номер государственной регистрации 20123040).

Цель и задачи исследования

Цель: оптимизировать методы оценки состояния про-/антиоксидантной системы с использованием различного биологического материала и обосновать их применение в сочетании с методами оценки иммунного статуса в качестве

лабораторных критериев мониторинга заболевания у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей.

Задачи:

1. Усовершенствовать метод и учет результатов оценки про-/антиоксидантного баланса в крови и смешанной слюне, основанный на использовании люминолзависимой хемилюминесценции, и проанализировать характер связи полученных параметров с содержанием в анализируемых биологических объектах первичных, вторичных, конечных продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов, параллельно оцениваемых биохимическими методами.

2. Установить направленность и выраженность изменений параметров люминолзависимой хемилюминесценции, отражающей состояние про-/антиоксидантного баланса, а также содержания первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов в плазме крови, эритроцитах и смешанной слюне пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей в зависимости от клинических особенностей и на различных этапах течения заболевания.

3. На основании результатов выполненного комплексного исследования научно обосновать лабораторно-диагностическую информативность предложенного неинвазивного теста оценки про-/антиоксидантного баланса смешанной слюны для характеристики состояния организма.

4. Установить сдвиги в состоянии общей иммунологической реактивности пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей на основе оценки содержания основных и минорных субпопуляций лимфоцитов, показателей гуморального иммунитета, функциональной активности нейтрофилов и определить характер взаимосвязей параметров иммунограммы и про-/антиоксидантной системы.

Объект исследования: венозная кровь (плазма, эритроциты и лейкоциты), смешанная слюна здоровых лиц и пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей.

Предмет исследования: показатели люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ), перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и смешанной слюне: первичные – диеновые конъюгаты (ДК), вторичные – кетодиены (КД), конечные – основания Шиффа (ОШ); системы антиоксидантной защиты (АОЗ): церулоплазмин (ЦП) в плазме и слюне, супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза в эритроцитах; показатели клеточного (субпопуляции лимфоцитов), гуморального иммунитета (IgG, IgA, IgM, ЦИК), функциональной активности нейтрофилов (поглощительной и кислородпродуцирующей способности).

Положения, выносимые на защиту

1. Стадия клинической ремиссии при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей характеризуется увеличенным содержанием первичных, вторичных и конечных продуктов пероксидации амфифильных липидов, оснований Шиффа нейтральных липидов на фоне уменьшения уровня вторичных продуктов нейтральных липидов (кетодиенов) плазмы крови. Изменения характерны для большинства пациентов и существенно не зависят от длительности течения и частоты рецидивирования заболевания. В эритроцитах и смешанной слюне пациентов вектор изменения содержания продуктов ПОЛ аналогичен таковому в плазме крови, за исключением уровня кетодиенов амфифильных липидов. Показатели соотношения уровня кетодиенов в плазме и эритроцитах крови, а также в плазме и слюне различаются у пациентов в зависимости от стадии заболевания (ремиссия, обострение).

2. Содержание церулоплазмينا в плазме крови пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей снижено на фоне увеличения активности СОД и каталазы в эритроцитах, а в смешанной слюне – повышено относительно контрольных значений; причем максимальные изменения отмечаются в период обострения процесса. Активность СОД и каталазы в эритроцитах не зависит от частоты рецидивирования и давности заболевания.

3. Разработанный способ оценки проявлений антиокислительной активности путем соотнесения уровней люминолзависимой хемилюминесценции до и после внесения в реакционную смесь исследуемой биологической жидкости, а также установление наиболее адекватных режимов технологического процесса исследования (использование для инициации хемилюминесценции сернокислого закисного железа в концентрации 25 ммоль/л, времени регистрации сигнала в течение 5 минут) позволили стандартизировать и оптимизировать методику хемилюминесцентного анализа и использовать ее для оценки характера расстройств и степени компенсации в системе про-/антиоксидантов плазмы крови и смешанной слюны пациентов.

4. В стадии клинической ремиссии у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей отмечается уменьшение относительных значений медианы параметров свечения (максимальной интенсивности вспышки – I_{\max} и светосуммы свечения – S) плазмы крови и слюны, но индивидуальные колебания параметров находятся на уровне нижней границы референтного интервала здоровых лиц, что следует расценивать как сохранение про-/антиоксидантного равновесия. В период обострения у большинства пациентов относительные значения I_{\max} и S снижены по сравнению с референтным интервалом здоровых лиц, что свидетельствует о дисбалансе про- и антиоксидантов с развитием недостаточности антиоксидантного звена. Значения I_{\max} слюны и плазмы могут быть использованы для оценки активности воспалительного процесса при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей.

5. Изменения показателей основных субпопуляций лимфоцитов крови и концентрации иммуноглобулинов А, М, G не связаны с клиническими особенностями заболевания. Содержание активированных Т-клеток ($CD3^+CD4^+CD25^+$, $CD3^+HLA-DR^+$) и НКТ-лимфоцитов крови повышается у пациентов в период ремиссии и, в большей степени, в период обострения процесса, причем количество НКТ-клеток взаимосвязано с частотой рецидивирования и давностью заболевания. Количество минорных субпопуляций лимфоцитов взаимосвязано с параметрами, отражающими интенсивность вспышки ЛЗХЛ и содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления нейтральных липидов в плазме крови. Показатели кислородпродуцирующей функции нейтрофилов обнаруживают связь со значениями интенсивности ЛЗХЛ и стадией заболевания (ремиссия, обострение).

Личный вклад соискателя

Научным руководителем предложена тема диссертации и ее методическое решение. Планирование диссертационного исследования, формулировка цели и задач, выбор методов и объема исследований осуществлены соискателем совместно с научным руководителем. Все основные научные результаты диссертационной работы получены автором лично (90%). Соискателем освоены методики и выполнены лабораторные исследования, проведена статистическая обработка полученных результатов (100%), сформулированы выводы, которые изложены в публикациях [1-25] и в диссертации. Соавторы публикаций оказывали помощь при обсуждении результатов (профессор И.А. Новикова, доцент И.Д. Шляга), при организации исследований (А.В. Гомоляко, И.Э. Бондарчук, И.В. Минчик, М.Г. Шитикова).

Апробация результатов диссертации

Основные положения и научные результаты диссертации доложены на следующих республиканских и международных конференциях: «Актуальные проблемы медицины» (г. Гомель, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 гг.), «Проблемы и перспективы развития современной медицины» (г. Гомель, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 гг.), «Чернобыльские чтения» (г. Гомель, 2010, 2012 гг.), «Сучасні аспекти медицини і фармації» (г. Запорожье, 2010, 2011, 2013, 2014 гг.), «25 лет после Чернобыльской катастрофы: преодоление ее последствий в рамках Союзного государства» (г. Гомель, 2011 г.), «Медицина и фармация XXI столетия – шаг в будущее» (г. Запорожье, 2012 г.), «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (г. Запорожье, 2012 г.), «Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике» (г. Гомель, 2013), «Актуальные вопросы современной медицины» (г. Харьков, 2013 г.).

Опубликованность результатов диссертации

Результаты проведенных исследований отражены в 25 научных работах, из них за рубежом – 6. Опубликовано 5 статей общим объемом 2,15 авторских листа в научных журналах, соответствующих пункту 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», 20 – в сборниках научных трудов и материалах конференций. Получено 1 уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента. Получены три свидетельства на рационализаторские предложения.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, состоящей из 5 глав, заключения, библиографического списка, включающего 139 работ отечественных, 102 – зарубежных авторов и 25 собственных публикаций, и 3 приложений. Диссертация изложена на русском языке на 98 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 таблицами на 14 страницах и 31 рисунком на 13 страницах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследований

Обследовано 143 пациента (48 мужчин и 95 женщин в возрасте от 18 до 49 лет) с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей в период ремиссии и 23 пациента (15 женщин и 8 мужчин в возрасте от 18 до 42 лет) в динамике заболевания (ремиссия, обострение). Контрольную группу составили 78 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Всем пациентам проводилось комплексное лабораторное обследование: общеклинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, бактериологическое исследование мазков из носа и/или ротоглотки на флору и чувствительность к антибиотикам. Для оценки оксидантного статуса определяли: содержание в крови и смешанной слюне первичных (диеновые конъюгаты – ДК), вторичных (кетодиены – КД) и конечных (основания Шиффа – ОШ) продуктов перекисидации нейтральных липидов (гептановая фаза) и фосфолипидов (изопропанольная фаза) спектрофотометрическим методом. Содержание продуктов ПОЛ рассчитывали по отношениям оптических плотностей (А) двух фаз экстракции, измеренных при 220, 232, 278 и 400 нм: А₂₃₂/А₂₂₀ (ДК), А₂₇₈/А₂₂₀ (КД), А₄₀₀/А₂₂₀ (ОШ). Результат выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.) (И.А. Волчегорский, 1989). Активность СОД (Т.В. Сирота, 1999) и каталазы (М.А. Королюк, 1988) в эритроцитах определяли спектрофотометрическим методом; уровень церулоплазмينا – иммунотурбидиметрическим методом (с использованием тест-систем «Sentinel Diagnostics», Италия).

Про-/антиоксидантный баланс оценивали методом люминолзависимой хемиллюминесценции – ЛЗХЛ (Ю.А. Владимиров, 1972; С.Г. Семесько, 2002).

Регистрацию результатов ЛЗХЛ осуществляли на флюориметре/спектрофотометре Cary Eclipse FL1002M003 (Variant, USA) с автоматическим определением максимальной интенсивности свечения (I_{max}), светосуммы хемилюминесценции (S), времени достижения пика ЛЗХЛ (t).

Иммунологическое обследование включало определение относительного (%) и абсолютного (абс) содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и их субпопуляций: Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$), Т-цитотоксических ($CD3^+CD8^+$), В-клеток ($CD19^+$), НК-клеток ($CD3^-CD16/56^+$), НКТ-лимфоцитов ($CD3^+CD16/56^+$), активированных Т-клеток ($CD3^+HLA-DR^+$) и Т-клеток с рецептором к ИЛ-2 ($CD3^+CD4^+CD25^+$) методом проточной цитофлюориметрии (PAS, Partec, Германия); сывороточных иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, G иммунотурбидиметрически (с применением тест-систем «BioSystems S.A.», Испания); циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке методом преципитации полиэтиленгликолем (В. Гашкова, 1978); поглотительной активности нейтрофилов (фагоцитоз *S. aureus*) (А.Н. Маянский, 1989); супероксид-анион-продуцирующей функции нейтрофилов в спонтанном (НСТ_{сп}) и стимулированном *S. aureus* вариантах НСТ-теста (НСТ_{ст}) (R.L. Baehner, D.G. Nathan, 1967).

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов ввиду отсутствия согласия данных с нормальным распределением. Характер распределения проверяли тестом Колмогорова-Смирнова. Использовали U критерий Манн-Уитни для сравнения 2-х несвязанных выборок, критерий Вилкоксона – в связанных выборках. Для выявления количественных корреляций рассчитан коэффициент Спирмена. Выбор пороговых значений проводили с применением ROC – кривых в программе SPSS 13.0 for Windows (Hilbe J.M., 2009). Результаты выражали в виде медианы (Me) и диапазона 25-75 процентов. Критический уровень значимости принимали при $p \leq 0,05$.

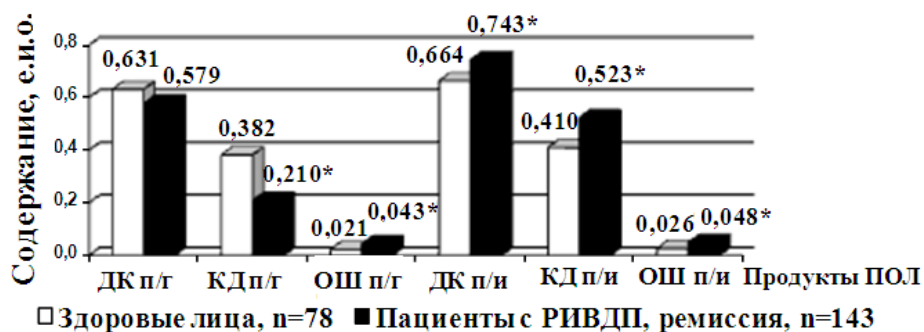
Результаты собственных исследований

Состояние перекисного окисления липидов крови и слюны у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей

Раздельное определение продуктов липопероксидации нейтральных липидов и фосфолипидов в плазме крови пациентов с РИВДП выявило снижение содержания вторичных интермедиатов окисления нейтральных липидов (КД) и повышение уровня конечных продуктов (ОШ) в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы ($p < 0,001$). При этом активации первичного этапа окисления нейтральных липидов (по количеству ДК) не выявлялось. Содержание всех продуктов фосфолипидпероксидации в плазме крови пациентов с РИВДП оказалось выше, чем в контрольной группе ($p = 0,001$; $p = 0,001$; $p < 0,001$ соответственно) (рисунок 1).

Описанные изменения были характерны для большинства пациентов (60-80% – по разным продуктам ПОЛ). Различий в содержании продуктов липопероксидации в плазме крови в зависимости от клинических особенностей заболевания

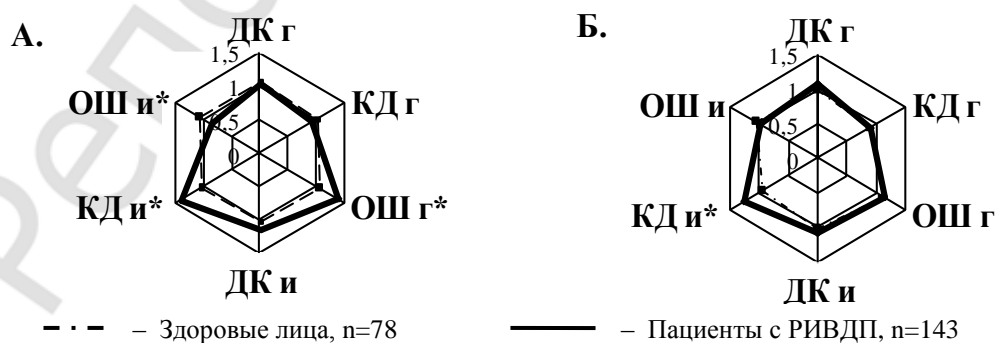
(локализации воспалительного процесса, частоты обострений, длительности заболевания, носительства *S. aureus*, наличия сопутствующих заболеваний) не выявлено.



г, и – гептановая и изопропанольная фазы; * – различия статистически значимы в сравнении со здоровыми лицами, $p \leq 0,05$.

Рисунок 1 – Содержание продуктов ПОЛ в плазме крови пациентов с РИВДП в период ремиссии

Для сравнительной оценки параметров липопероксидации в плазме, эритроцитах и смешанной слюне был рассчитан индекс распределения (ИР) как отношение содержания продукта ПОЛ в плазме к аналогичному параметру в эритроцитах (или слюне). У здоровых лиц степень пероксидации липидов плазмы и эритроцитов была практически одинаковой (значения медианы ИР по всем показателям колебалось от 1,02 до 1,08). У пациентов с РИВДП вектор изменения содержания интермедиатов ПОЛ в эритроцитах в целом совпадал с его изменением в плазме крови, за исключением КД фосфолипидов, количество которых в плазме крови пациентов повышалось по сравнению с аналогичным показателем здоровых лиц ($p=0,001$), а в эритроцитах – снижалось ($p=0,029$). В результате ИР плазма/эритроциты по КД фосфолипидов у пациентов составил 1,4 (в контрольной группе – 1,05; $p=0,001$). Содержание ОШ нейтральных липидов было выше в плазме (ИР=1,38; $p=0,017$ относительно здоровых лиц), а ОШ фосфолипидов – в эритроцитах (ИР=0,86; $p<0,001$ в сравнении с контрольной группой) (рисунок 2).



А – плазма/эритроциты; Б – плазма/слюна; г, и – гептановая и изопропанольная фазы; * – различия значимы относительно здоровых лиц, $p \leq 0,05$.

Рисунок 2 – Показатели индексов распределения продуктов липопероксидации в различном биологическом материале

Параметры ПОЛ плазмы и эритроцитов крови пациентов с РИВДП были взаимосвязаны как при исследовании гептановой (ДК $r_s=0,67$; $p<0,001$; КД $r_s=0,63$; $p<0,001$; ОШ $r_s=0,29$; $p<0,001$), так и изопропанольной фаз (ДК $r_s=0,44$; $p<0,001$; КД $r_s=0,36$; $p<0,001$; ОШ $r_s=0,29$; $p<0,001$). В то же время у здоровых лиц взаимосвязи степени окисленности липидов объектов системы плазма ↔ эритроциты оказались значимыми только по ДК ($r_s=0,39$; $p<0,001$) и КД ($r_s=0,47$; $p<0,001$) нейтральных липидов и ОШ фосфолипидов ($r_s=0,25$; $p=0,031$). Значения ИР плазма/эритроциты не зависели от клинических особенностей заболевания.

В смешанной слюне пациентов с РИВДП характер изменений процессов ПОЛ совпадал с таковым в плазме крови в большей степени, чем в эритроцитах. Исключением явилось содержание КД фосфолипидов, которое повышалось в плазме крови, но не в слюне (ИР плазма/слюна пациентов относительно здоровых лиц $p<0,001$). Значения ИР плазма/слюна в зависимости от длительности заболевания, частоты обострения, носительства *S.aureus* не отличались. В период обострения процесса содержание КД фосфолипидов в плазме крови пациентов было выше, чем в смешанной слюне ИР=1,30 (0,89;1,43), ($p=0,004$).

У пациентов с РИВДП параметры ПОЛ плазмы и слюны были взаимосвязаны при исследовании продуктов липопероксидации как в гептановой фазе (ДК $r_s=0,53$; $p<0,001$; КД $r_s=0,23$; $p=0,033$; ОШ $r_s=0,30$; $p=0,006$), так и в изопропанольной фазе (ДК $r_s=0,46$; $p<0,001$; КД $r_s=0,35$; $p=0,001$); у здоровых лиц подобной взаимосвязи не отмечено.

Таким образом, у пациентов с РИВДП изменения в содержании продуктов ПОЛ одинаково выражены при использовании различного биологического материала – плазмы, эритроцитов крови и смешанной слюны и сводятся к повышению уровней ДК, КД и ОШ в изопропанольном экстракте, ОШ в гептановой фазе на фоне снижения в ней уровня КД.

Показатели системы антиоксидантной защиты и про-/антиоксидантного баланса плазмы крови и слюны у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей

Оценка отдельных компонентов антиоксидантной защиты позволила установить, что содержание ЦП в плазме крови пациентов в период ремиссии воспалительного процесса было достоверно ниже, чем у здоровых лиц ($p=0,002$), хотя выраженность снижения оказалась небольшой (в среднем на 6%). Концентрация ЦП в смешанной слюне пациентов с РИВДП превышала значения здоровых лиц ($p<0,001$). В слюне здоровых лиц содержание ЦП было в 4,6 раза ниже, чем в плазме ($p<0,001$), в то время как у пациентов с РИВДП уровень ЦП в слюне был ниже только в 2,5 раза ($p<0,001$).

При обострении процесса изменения в содержании ЦП усугублялись (снижение в плазме, повышение в слюне) в сравнении с периодом ремиссии ($p=0,048$ в плазме и $p=0,008$ в смешанной слюне). Следует отметить, что взаи-

мосвязь содержания ЦП в плазме и слюне была значимой только у здоровых лиц ($r_s=0,41$; $p=0,001$).

Активность СОД и каталазы в эритроцитах пациентов в стадии ремиссии превышала значения в контроле ($p<0,001$). Среди пациентов с повышенной активностью эритроцитарной СОД преобладали лица с частотой обострений более 6 раз в год ($\chi^2=4,2$; $p=0,041$) и длительностью заболевания более 2-х лет ($\chi^2=7,1$; $p=0,007$).

Учитывая разнонаправленный характер изменений показателей ПОЛ и АОЗ у пациентов с РИВДП, не позволяющий оценить в целом характер расстройств и степень компенсации, мы исследовали возможность оценки про-/антиоксидантного баланса в плазме крови и смешанной слюне с применением метода люминолзависимой хемилюминесценции. Использованный нами подход, основанный на сравнении интенсивности ЛЗХЛ радикалообразующей системы в отсутствие и в присутствии биологического материала, позволил нивелировать «разночтения» в учете результатов и стандартизировать методику. Степень угнетения свечения в присутствии биологического материала зависит как от исходного уровня процессов свободнорадикального окисления, так и совокупной активности антиоксидантных систем, поэтому позволяет произвести комплексную оценку стабильности про-/антиоксидантного баланса (С.Г. Семеско, 2002). Измерению подлежали максимальная интенсивность свечения (I_{max}), которая отражает устойчивость про-/антиоксидантного баланса; площадь под кривой (S) как показатель общей емкости антиоксидантной защиты; время достижения пика свечения (t), позволяющее судить об исходной антирадикальной активности биоматериала (Ю. А. Владимиров, 2009).

Оптимизирован способ регистрации результатов исследования, в соответствии с которым они представляются в % по отношению к значениям ЛЗХЛ радикалообразующей смеси в присутствии физиологического раствора (контроль). Такой подход позволяет нивелировать колебания значений ЛЗХЛ, связанные с нестабильностью тест-системы, применением реагентов разных фирм, а также сопоставлять результаты, полученные в различных лабораториях и с использованием различного биологического материала.

Внесены усовершенствования и в процедуру выполнения исследования. Показано, что использование раствора сернокислого закисного железа в концентрации 25 ммоль/л позволяло получить более пологий подъем кривой ХЛ по сравнению с концентрацией 50 ммоль/л, что удобно для оценки времени достижения пика ХЛ, без значимого изменения других анализируемых параметров ЛЗХЛ. Установлено, что регистрация ХЛ-сигнала в течение 5 минут является оптимальной и достаточной для корректного определения всех изучаемых параметров. Доказано, что период хранения биологического материала до анализа при комнатной температуре должен составлять не более 2 часов.

У здоровых лиц параметры ЛЗХЛ плазмы и слюны оказались сопоставимы, аналогичная картина наблюдалась и у пациентов с РИВДП (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели ЛЗХЛ плазмы и слюны у пациентов с РИВДП и здоровых лиц

| Группы обследованных | Биоматериал | Параметры ХЛ (% от контроля) | |
|--|-------------|------------------------------|-------------------|
| | | I _{max} | S |
| Здоровые лица, n=24 | Плазма | 78,0 (71,9;89,7) | 73,7 (68,4;76,4) |
| | Слюна | 80,8 (75,1;87,7) | 81,9 (72,3;84,5) |
| Пациенты с РИВДП в период ремиссии, n=43 | Плазма | 69,7 (51,4;72,4)* | 47,0 (45,1;50,5)* |
| | Слюна | 67,4 (48,2;74,0)* | 46,4 (41,0;58,6)* |

Примечание – * – различия статистически значимы в сравнении с соответствующими параметрами у здоровых лиц, $p \leq 0,05$.

В то же время у пациентов с РИВДП отмечались более низкие значения показателей общей антиоксидантной емкости (S) и устойчивости равновесия про-/антиоксидантов (I_{max}) плазмы, по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,001$; $p = 0,008$ соответственно). В слюне наблюдались такие же изменения как в плазме крови, но их степень была более выраженной ($p < 0,001$). Параметры ЛЗХЛ плазмы и смешанной слюны взаимосвязаны, как у здоровых лиц (по I_{max} $r_s = 0,81$; $p < 0,001$; по S $r_s = 0,63$; $p = 0,001$), так и у пациентов с РИВДП (по I_{max} $r_s = 0,64$; $p < 0,001$; по S $r_s = 0,55$; $p < 0,001$). В группе пациентов, но не у здоровых лиц, значения I_{max} слюны коррелировали с уровнем ЦП в плазме крови ($r_s = -0,39$; $p = 0,042$).

Полученные результаты позволяют рассматривать смешанную слюну как удобный и информативный биологический материал для суммарной оценки состояния про-/антиоксидантной системы.

Для решения вопроса о степени компенсации наблюдаемых нами сдвигов мы сопоставили дисперсию значений параметров ЛЗХЛ, определенных у здоровых лиц и пациентов с РИВДП в стадии ремиссии. В качестве референтных пределов принимали 5,0 и 95,0 процентиля здоровых лиц. Значения референтного интервала были установлены согласно правилам установления референтных интервалов, принятым в клинической лабораторной диагностике (В.С. Камышников, 2014), и составили: I_{max} плазмы 57,7-93,0%, S плазмы 51,9-74,2%; I_{max} слюны 60,8-93,0%, S слюны 54,8-88,4%. При индивидуальном анализе значений ЛЗХЛ у пациентов установлено, что выход показателя I_{max} плазмы за нижний предел наблюдался только у 10 из 43 пациентов (23%) в период ремиссии, I_{max} смешанной слюны – у 17 пациентов (40%). Отклонения значений светосуммы хемилюминесценции (S) плазмы были ниже интервала нормы у 13 пациентов (30% случаев), слюны – в 10 случаях (23%). Таким образом, у большинства пациентов в период ремиссии изменения про- и антиоксидантов находились в пределах широкого интервала нормы, что свидетельствует о сохранении баланса про-/антиоксидантов у пациентов в межрецидивный период.

В период обострения параметры ЛЗХЛ плазмы крови и слюны у всех пациентов оказались меньше нижней границы референтного интервала здоровых лиц (I_{max} плазмы 57,7%; S плазмы 51,9%; I_{max} слюны 60,8%; S слюны 54,8%)

($p < 0,001$). Это позволило трактовать наблюдающиеся изменения параметров свободнорадикального окисления как дисбаланс про-/антиоксидантов с развитием недостаточности антиоксидантного звена.

Время достижения пика хемилюминесценции, характеризующее исходную антирадикальную активность биоматериала, оказалось повышенным как в плазме крови ($p = 0,002$), так и в слюне пациентов в период ремиссии заболевания ($p = 0,018$), в сравнении с контрольной группой. При этом значения t в слюне оказались значимо выше, чем в плазме (в 2,4 раза у здоровых лиц, $p < 0,001$; в 1,9 раз у пациентов, $p < 0,001$).

Значения параметров ЛЗХЛ были взаимосвязаны как в плазме крови ($I_{\max} \leftrightarrow S$, $r_s = 0,68$; $p < 0,001$), так и в смешанной слюне пациентов с РИВДП ($I_{\max} \leftrightarrow S$, $r_s = 0,67$; $p < 0,001$). У здоровых лиц имелась только корреляция между $I_{\max} \leftrightarrow S$ в смешанной слюне ($r_s = 0,55$; $p = 0,013$).

Среди изученных показателей свободнорадикального окисления мы на основании пошагового анализа выбрали наиболее значимые для мониторинга воспалительного процесса. Сравнили значения параметров в группах пациентов в разные периоды заболевания: в период ремиссии (группа 1 – воспаление неактивно, $n = 23$) и в период обострения РИВДП (группа 2 – воспаление активно, $n = 23$), наличие которого подтверждалось данными клинического и лабораторного исследования. По результатам пошагового анализа с последующей оценкой ROC-кривых максимально значимыми ($p = 0,004$) показателями для дифференциации состояния ремиссии и обострения РИВДП оказались I_{\max} слюны ($AUC = 0,927$) и I_{\max} плазмы ($AUC = 0,801$).

Пороговые значения определяли, исходя из точки оптимального баланса специфичности и чувствительности используемого лабораторного теста. Они составили для I_{\max} слюны – 64% (диагностическая чувствительность – 83%, диагностическая специфичность – 84%), для I_{\max} плазмы – 61% (диагностическая чувствительность – 80%, диагностическая специфичность – 81%). В случае если значения I_{\max} были ниже пороговых, воспаление оценивалось как активное, а при значениях выше пороговых – воспаление расценивалось как неактивное.

При отдельном определении каждого критерия число верно оцененных результатов для I_{\max} плазмы составило 74% (16 из 23), для I_{\max} слюны – 94% (22 из 23). По результатам исследований оформлена заявка на изобретение и получено положительное решение предварительной экспертизы от 05.08.2013 г. №а20130698 МПК G01N 33/52,48/.

Таким образом, параметры интенсивности ЛЗХЛ плазмы и смешанной слюны могут быть использованы для определения стадии инфекционно-воспалительного процесса у пациентов с РИВДП, а также для комплексной оценки резервных возможностей организма.

Показатели иммунограммы у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей

Учитывая тот факт, что рецидивирующие инфекции рассматриваются как проявление иммунологической недостаточности, мы провели оценку показателей иммунного статуса в группе пациентов (n=143) и сопоставили их значения с активностью процессов в системе ПОЛ/АОЗ. Выявлено, что параметры основных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с РИВДП не отличались от контрольных значений, полученных при исследовании 40 практически здоровых людей. В то же время отмечалось увеличение абсолютного и относительного количества CD3⁺CD4⁺CD25⁺ (в 3 раза, p_{абс}<0,001 и в 1,8 раза, p_%<0,0001), CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов (в 2 раза, p_{абс}=0,001 и в 2,1 раза, p_%<0,001) и НКТ-клеток (в 1,4 раза p_{абс}=0,009 и p_%=0,031) (таблица 2).

Таблица 2 – Субпопуляционный состав лимфоцитов крови у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей

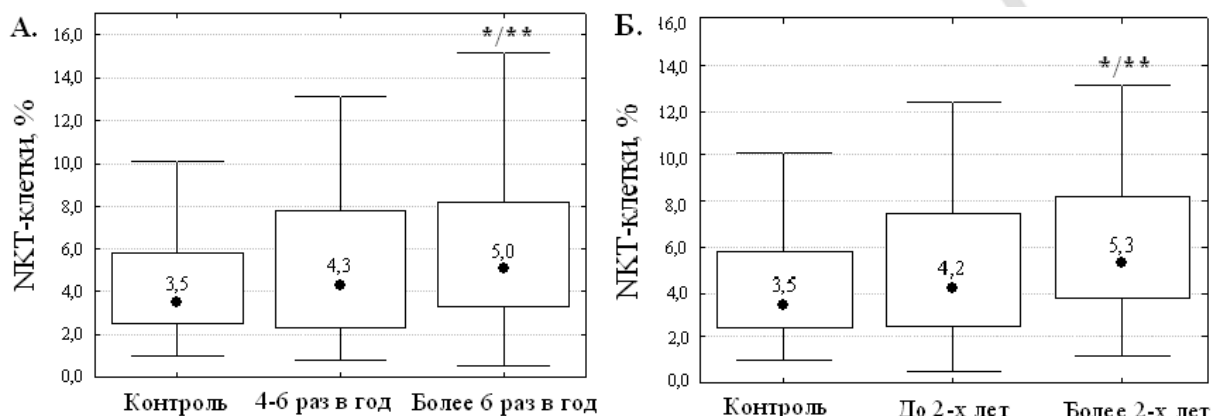
| Наименование показателя, ед. измерения | Контрольная группа, n=40 | Пациенты с РИВДП в период ремиссии, n=143 |
|---|--------------------------|---|
| CD3 ⁺ , % | 71,3 (66,0; 75,0) | 72,9 (66,0; 76,4) |
| CD3 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 1,23 (1,00; 1,67) | 1,45 (1,14; 1,91) |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ , % | 42,0 (35,4; 46,6) | 42,3 (37,4; 46,3) |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,76 (0,61; 0,96) | 0,93 (0,89; 1,07) |
| CD3 ⁺ CD8 ⁺ , % | 23,6 (20,8; 26,8) | 22,8 (18,9; 27,9) |
| CD3 ⁺ CD8 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,43 (0,33; 0,58) | 0,49 (0,23; 0,68) |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺ | 1,8 (1,4; 2,1) | 1,9 (1,5; 2,3) |
| CD19 ⁺ , % | 10,5 (9,1; 12,4) | 10,4 (8,7; 12,9) |
| CD19 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,17 (0,15; 0,24) | 0,22 (0,15; 0,30) |
| CD3 ⁻ CD16/56 ⁺ , % | 13,4 (8,8; 17,5) | 12,9 (9,5; 17,8) |
| CD3 ⁻ CD16/56 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,22 (0,15; 0,34) | 0,28 (0,19; 0,37) |
| CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , % | 1,5 (0,8; 2,3) | 3,2 (2,2; 4,4)* |
| CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,03 (0,02; 0,04) | 0,06 (0,04; 0,09)* |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , % | 3,3 (2,3; 4,2) | 5,9 (4,2; 9,1)* |
| CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,04 (0,03; 0,05) | 0,12 (0,08; 0,20)* |
| CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , % | 3,5 (2,5; 5,8) | 4,9 (3,1; 8,0)* |
| CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , ×10 ⁹ /л | 0,07 (0,05; 0,11) | 0,10 (0,06; 0,18)* |

Примечание – * – различия значимы в сравнении с контрольной группой, p≤0,05.

Выявленные изменения CD3⁺CD4⁺CD25⁺ и CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов можно рассматривать как результат активации Т-клеток, что подтверждается наличием значимой, хотя и слабой силы, взаимосвязи между этими показателями (r_s=0,33; p<0,001). Максимальная степень увеличения минорных субпопуляций Т-клеток отмечалась при обострении процесса (p_%=0,028 по CD3⁺HLA-DR⁺; p_%=0,048 по CD3⁺CD4⁺CD25⁺; p_%=0,039 по CD3⁺CD16/56⁺). Следует отме-

туть, что повышение содержания минорных субпопуляций лимфоцитов было характерно для большинства обследованных пациентов (51-70%).

Среди изученных параметров только содержание НКТ-клеток зависело от продолжительности заболевания и частоты рецидивирования (рисунок 3).



А – в зависимости от частоты обострений в год; Б – в зависимости от длительности заболевания; * – различия значимы в сравнении с контрольной группой, ** – различия значимы в сравнении между группами (U критерий Манн-Уитни).

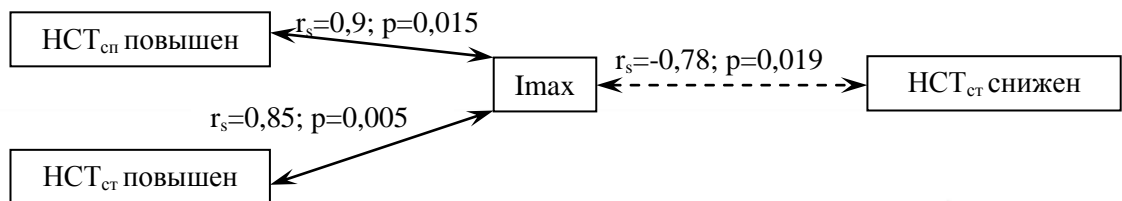
Рисунок 3 – Содержание НКТ-лимфоцитов в зависимости от клинических особенностей заболевания

Содержание минорных субпопуляций лимфоцитов было взаимосвязано с количеством продуктов окисления нейтральных липидов и показателями ЛЗХЛ (Imax): $CD3^+HLA-DR^+ \leftrightarrow ДКп/г$ ($r_s=0,32$; $p=0,035$), $CD3^+CD4^+CD25^+ \leftrightarrow КДп/г$ ($r_s=0,73$; $p=0,001$) и Imax ($r_s=-0,52$; $p=0,040$).

Уровень IgG и IgM у пациентов в период ремиссии был ниже, чем в контрольной группе ($p=0,005$ и $p=0,039$ соответственно), однако не выходил за пределы референтных значений здоровых лиц. Одновременно отмечалось повышение содержания ЦИК ($p<0,001$), что, вероятно, является отражением нестойкого характера ремиссии у данных пациентов. Такие же особенности наблюдались и у пациентов, обследованных в период обострения заболевания.

Изменений фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов с РИВДП, как в ремиссии, так и в обострении заболевания не обнаруживалось. Кислородпродуцирующая функция нейтрофилов по результатам НСТ-теста у большинства пациентов не изменялась (54%) или была снижена (24%), в остальных случаях (22%) – повышена.

Отмечено наличие значимой взаимосвязи между кислородпродуцирующей способностью нейтрофилов и интенсивностью вспышки хемилюминесценции (Imax), причем характер ассоциаций зависел от исходной величины показателей НСТ-теста (рисунок 4).



НСТ_{ст} – стимулированный и НСТ_{сп} – спонтанный вариант НСТ-теста;
 I_{max} – интенсивность вспышки ЛЗХЛ плазмы крови.

Рисунок 4 – Взаимосвязь кислородпродуцирующей функции нейтрофилов (НСТ-тест) и интенсивности ЛЗХЛ плазмы крови у пациентов с РИВДП

Как видно из рисунка 4, у пациентов с повышенными значениями НСТ-теста взаимосвязи НСТ_{сп} ↔ I_{max} и НСТ_{ст} ↔ I_{max} носили прямой характер, а при снижении способности к продукции кислородных радикалов – обратный.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В плазме крови пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей в стадии клинической ремиссии наблюдаются разнонаправленные изменения показателей системы ПОЛ/АОЗ: увеличивается содержание конечных продуктов окисления нейтральных липидов (на 72%, $p < 0,001$), а также первичных, вторичных и конечных продуктов пероксидации фосфолипидов (на 68%; $p = 0,001$; на 53%; $p = 0,001$ и на 77%; $p < 0,001$ соответственно) при одновременном снижении содержания вторичных продуктов пероксидации нейтральных липидов (на 44%; $p < 0,001$) и церулоплазмина ($p = 0,002$) по сравнению со здоровыми лицами. При обострении процесса наблюдается возрастание уровня первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ по всем изученным параметрам ($p < 0,001$), но уровень ЦП остается сниженным ($p = 0,001$) относительно здоровых лиц. Вектор и степень изменения показателей системы ПОЛ/АОЗ плазмы пациентов не зависят от длительности анамнеза и частоты рецидивирования заболевания [1, 2, 3, 7, 13, 16, 20, 22].

2. Содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах пациентов с РИВДП, в отличие от здоровых лиц, прямо коррелирует с соответствующими показателями плазмы ($r_s = 0,29-0,67$; $p < 0,001$) и изменяется аналогичным образом. Исключение составляют кетодиены фосфолипидов, уровень которых в плазме крови пациентов увеличивается ($p = 0,001$), а в эритроцитах – снижается ($p = 0,029$) относительно контрольных значений. При обострении заболевания дисбаланс в распределении кетодиенов фосфолипидов между плазмой и эритроцитами усиливается ($p = 0,008$). Активность СОД и каталазы эритроцитов у пациентов повышается ($p < 0,001$ относительно контрольных значений), причем в максимальной степени в период обострения процесса ($p = 0,019$ относительно ремиссии) [1, 2, 3, 7, 13, 16, 22, 24].

3. Характер изменений показателей содержания всех исследованных продуктов ПОЛ в смешанной слюне пациентов совпадает с таковым в плазме крови, за исключением кетодиенов фосфолипидов, уровень которых повышен только в плазме пациентов (индекс распределения плазма/слюна=1,27; $p<0,001$). Содержание церулоплазмينا в смешанной слюне пациентов повышается (на 36%; $p<0,001$), а в плазме – снижается (на 6%; $p=0,002$). Показатели ПОЛ плазмы и смешанной слюны у пациентов с РИВДП, в отличие от здоровых лиц, коррелируют между собой (по ДКг $r_s=0,53$; $p<0,001$; по КДг $r_s=0,23$; $p=0,033$; по ОШг $r_s=0,30$; $p=0,006$; по ДКи $r_s=0,46$; $p<0,001$; по КДи $r_s=0,35$; $p=0,001$), а взаимосвязь уровня ЦП в плазме и слюне не является значимой. Значения индекса распределения КД плазма/слюна и уровня ЦП в слюне пациентов повышены в зависимости от стадии воспалительного процесса ($p=0,022$; $p=0,008$ соответственно в обострении относительно ремиссии) [1,2, 3, 7, 11, 25].

4. Оптимизация метода люминолзависимой хемилюминесценции плазмы и слюны, достигнутая использованием раствора сернокислого закисного железа в концентрации 25 ммоль/л; времени регистрации сигнала – 5 минут; с соблюдением срока хранения материала – не более 2-х часов, а также учета результатов исследования по соотношению показателей ЛЗХЛ без биоматериала (внутренний контроль) и после его внесения в реакционную смесь (опыт), позволяет стандартизировать режим исследования [5, 27, 28, 29].

5. В межрецидивный период РИВДП относительные значения медианы максимальной интенсивности свечения (I_{max}) и светосуммы хемилюминесценции (S) снижены ($p<0,001$; $p=0,008$ соответственно в плазме и $p<0,001$ в слюне), однако в 60-77% случаев находятся на уровне или выше 5-го перцентиля референтного интервала здоровых лиц (I_{max} плазмы $\geq 58\%$ и $S \geq 48\%$, а I_{max} слюны $\geq 61\%$ и $S \geq 55\%$), что позволяет констатировать сохранение баланса про- и антиоксидантов. В период обострения параметры ЛЗХЛ находятся ниже 5% интервала контрольной группы, что подтверждает дисбаланс про- и антиоксидантов с развитием недостаточности антиоксидантного звена. Параметры ЛЗХЛ плазмы и слюны тесно взаимосвязаны (у пациентов – по I_{max} $r_s=0,86$; $p<0,001$, по S $r_s=0,55$; $p<0,001$; у здоровых лиц – по I_{max} $r_s=0,81$; $p<0,001$, по S $r_s=0,63$; $p=0,001$) [5, 14, 15, 17, 18, 19, 23, 25, 27, 28, 29].

Значения I_{max} плазмы крови и смешанной слюны являются информативными лабораторными параметрами оценки активности воспалительного процесса у пациентов с РИВДП. Относительные значения I_{max} плазмы $< 61\%$ и I_{max} слюны $< 64\%$ от интенсивности свечения радикалообразующей смеси свидетельствуют об активном воспалительном процессе. Диагностическая чувствительность оценки I_{max} плазмы и слюны составляет соответственно 71% и 70%, диагностическая специфичность – 72% и 94% [5, 14, 15, 17, 18, 23, 26].

6. У пациентов с РИВДП в стадии ремиссии заболевания повышается содержание активированных Т-клеток ($CD3^+CD4^+CD25^+$, $CD3^+HLA-DR^+$) и НКТ-лимфоцитов в крови ($p_{abc/\%}<0,001/0,001$; $p_{abc/\%}<0,001/0,001$;

$p_{\text{абс/\%}}=0,009/0,03$ соответственно), но отсутствуют отклонения в количестве основных субпопуляций лимфоцитов ($CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD19^+$, $CD3^+CD16/56^+$) и концентрации иммуноглобулинов А, М, G. Содержание НКТ-клеток взаимосвязано с частотой рецидивирования и давностью заболевания ($p=0,046$, $p=0,039$ соответственно). Максимальное увеличение минорных субпопуляций определяется на фоне недостаточности антиоксидантного звена у пациентов с обострением ($p=0,028$ по $CD3^+HLA-DR^+$; $p=0,048$ по $CD3^+CD4^+CD25^+$; $p=0,039$ по $CD3^+CD16/56^+$ относительно ремиссии). Количество минорных субпопуляций лимфоцитов взаимосвязано с содержанием продуктов перекисидации нейтральных липидов ($CD3^+HLA-DR^+ \leftrightarrow$ ДКп/г $r_s=0,32$; $p=0,035$), $CD3^+CD4^+CD25^+ \leftrightarrow$ КДп/г $r_s=0,73$; $p=0,001$) и показателями ЛЗХЛ плазмы ($CD3^+CD4^+CD25^+ \leftrightarrow$ I_{max} $r_s=-0,52$; $p=0,040$). Кислородпродуцирующая активность нейтрофилов у пациентов с РИВДП изменяется разнонаправленно и коррелирует с интенсивностью вспышки ЛЗХЛ, причем при повышенных значениях спонтанного и стимулированного НСТ-теста взаимосвязь $НСТ_{\text{ст}} \leftrightarrow$ I_{max} носит прямой характер ($r_s=0,90$; $p=0,015$ и $r_s=0,85$; $p=0,005$ соответственно), а при угнетении метаболической активности нейтрофилов – обратный ($r_s=-0,78$; $p=0,019$) [4, 6, 8, 9, 10, 12, 21].

Рекомендации по практическому использованию результатов диссертации

1. Предложена методика неинвазивного исследования состояния про-/антиоксидантного баланса смешанной слюны на основании оценки люминолзависимой хемилюминесценции [18, 19].

2. Показатель интенсивности вспышки ХЛ (I_{max}) может быть использован для оценки активности воспалительного процесса при РИВДП (активный процесс – I_{max} плазмы < 61%, I_{max} слюны < 64%, неактивный процесс – I_{max} плазмы ≥ 61%, I_{max} слюны ≥ 64%). Диагностическая чувствительность (ДЧ) и диагностическая специфичность (ДС) составили для I_{max} плазмы ДЧ=71% и ДС=72%, а для I_{max} смешанной слюны ДЧ=70%, ДС=94% [22, 24, 26].

3. Дополнительным подходом для определения стадии заболевания (ремиссия, обострение) может служить комплексная оценка содержания кетодиенов (КД) фосфолипипероксидов в плазме и эритроцитах (или слюне) с расчетом соотношения КД плазмы/КД эритроцитов (или слюны) [3].

4. Стандартная иммунограмма для оценки реактивности организма у пациентов с РИВДП и мониторинга заболевания обладает недостаточной информативностью. Дополнительное включение в иммунограмму определения НКТ-лимфоцитов, а также $CD3^+CD4^+CD25^+$ и $CD3^+HLA-DR^+$ -лимфоцитов повышает ее клиническую информативность, позволяя оценить степень активности процесса [4, 6, 8, 9].



СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах

1. Петренко, Т. С. Параметры липопероксидации крови и слюны при рецидивирующих заболеваниях верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко, И. А. Новикова, И. Д. Шляга // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 1 (27). – С. 61 – 66.

2. Петренко, Т. С. Состояние свободнорадикального окисления у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 3 (29). – С. 18 – 22.

3. Новикова, И. А. Активность перекисного окисления липидов в различном биологическом материале пациентов с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей / И. А. Новикова, Т. С. Петренко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 5. – С. 22 – 25.

4. Новикова, И. А. Клиническая информативность иммунограммы у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / И. А. Новикова, Т. С. Петренко // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, № 4– 5. – С. 423 – 428.

5. Петренко, Т. С. Характеристика параметров люминол-зависимой хемилюминесценции липидов плазмы крови пациентов с рецидивирующими респираторными инфекциями / Т. С. Петренко, И. А. Новикова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2013. – № 1. – С. 68 – 75.

Статьи в сборниках научных работ и материалах конференций

6. Петренко, Т. С. Субпопуляционный состав лимфоцитов у больных с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко, М. Г. Шитикова // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 19-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 23-24 февр. 2010 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. – Т. 3. – С. 192 – 195.

7. Петренко, Т. С. Показатели липопероксидации у больных рецидивирующими заболеваниями ЛОР-органов / Т. С. Петренко // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. II респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 29-30 апр. 2010 г.: в 2 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2010. – Т. 2. – С. 66 – 68.

8. Петренко, Т. С. Показатели иммунного статуса у больных с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко, И. А. Новикова // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 20-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 24-25

февр. 2011 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2011. – Т. 3. – С. 143 – 132.

9. Вершинина, С. И. Малые субпопуляции лимфоцитов при различных клинических проявлениях вторичной иммунологической недостаточности / С. И. Вершинина, М. В. Злотникова, Т. С. Петренко // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 20-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 24–25 февр. 2011 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2011. – Т. 1 – С. 92 – 94.

10. Петренко, Т. С. Функциональная активность нейтрофилов при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // 25 лет после Чернобыльской катастрофы. Преодоление ее последствий в рамках Союзного государства : материалы междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 12-13 апр. 2011 г. / Респ. науч.-практ. центр радиационной медицины и экологии человека; под общ. ред. А. В. Рожко. – Гомель: РНПЦ РМ и ЭЧ, 2011. – С. 135 – 136.

11. Петренко, Т. С. Особенности липопероксидации в слюне больных с рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. III респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 28-29 апр. 2011 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2011. – Т. 3. – С. 165–166.

12. Петренко, Т. С. Взаимосвязь параметров липопероксидации и фенотипа лимфоцитов крови у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 21-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 16-17 февр. 2012 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2012. – Т. 3. – С. 169 – 171.

13. Петренко, Т. С. Показатели перекисного окисления липидов крови у пациентов с хроническим тонзиллитом / Т. С. Петренко, И. В. Минчик, И. Э. Бондарчук // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 21-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 16-17 февр. 2012 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2012. – Т. 3. – С. 165–169.

14. Железко, В. В. Оценка параметров свободнорадикального окисления плазмы у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / В. В. Железко, Т. С. Петренко // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. IV респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 19-20 апр. 2012 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2012. – Т. 2. – С. 50 – 52.

15. Петренко, Т. С. Методологические подходы к оценке хемилюминесценции плазмы крови / Т. С. Петренко, И. А. Новикова,

А. В. Гомоляко // Чернобыльские чтения–2012: материалы междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 19-20 апр. 2012 г. / Респ. науч.-практ. центр радиационной медицины и экологии человека; под общ. ред. А. В. Рожко. – Гомель: РНПЦ РМиЭЧ, 2012. – С. 214 – 217.

16. Петренко, Т. С. Показатели перекисного окисления липидов крови у пациентов с хроническим тонзиллитом / Т. С. Петренко, И. В. Минчик, И. Э. Бондарчук // Чернобыльские чтения–2012: материалы междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 19-20 апр. 2012 г. / Респ. науч.-практ. центр радиационной медицины и экологии человека; под общ. ред. А. В. Рожко. – Гомель: РНПЦ РМиЭЧ, 2012. – С. 194 – 196.

17. Вершинина, С. И. Люминолзависимая хемилюминесценция эритроцитов при хронических рецидивирующих инфекциях / С. И. Вершинина, Т. С. Петренко, И. А. Новикова // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике: материалы междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 31 янв. 2013 г. / Респ. науч.-практ. центр радиационной медицины и экологии человека; под общей ред. А. В. Рожко. – Гомель: РНПЦ РМ и ЭЧ, 2013. – С. 13–14.

18. Петренко, Т. С. Параметры люминолзависимой хемилюминесценции плазмы и слюны у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 22-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 14-15 нояб. 2013 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2013. – Т. 3. – С. 206 – 208.

19. Петренко, Т. С. Антирадикальная активность плазмы крови и слюны пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. VI респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 23-24 апр. 2014 г.: в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол.: А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2014. – Т. 3. – С. 66–67.

Тезисы докладов

20. Петренко, Т. С. Интенсивность процессов липопероксидации у больных с рецидивирующими заболеваниями ЛОР-органов. / Т. С. Петренко // Сучасні аспекти медицини і фармації–2010: тези доповідей 70 Ювілейна Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, Запорожье, 13-14 мая 2010 г. / Запорожский гос. мед. ун-т; редкол.: Ю. М. Колесник [и др.]. – Запорожье, 2010. – Т. 28. – С. 36.

21. Вершинина, С. И. Субпопуляционный состав лимфоцитов при хронической инфекциях различной этиологии / С. И. Вершинина, М. В. Злотникова, Т. С. Петренко // Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011: тези доповідей 71 Ювілейна Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, Запорожье, 13-14 мая 2011 г. / Запорожский гос.

мед. ун-т; редкол.: Ю. М. Колесник [и др.]. – Запорожье, 2011. – Вып. XXIV, № 2. – С. 51–52.

22. Петренко, Т. С. Содержание продуктов липопероксидации плазмы крови у пациентов с рецидивирующим гиперпластическим ларингитом / Т. С. Петренко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 9. – С. 39 – 40.

23. Петренко, Т. С. Хемиллюминесценция плазмы у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Медицина и фармация XXI столетия–шаг в будущее: тезисы доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, Запорожье, 19-20 апр. 2012 г. / Запорожский гос. мед. ун-т; редкол.: Ю. М. Колесник [и др.]. – Запорожье, 2012. – № 2 (9). – С. 131.

24. Петренко, Т. С. Влияние конечных продуктов свободнорадикального окисления на агрегационные свойства эритроцитов при хронических рецидивирующих инфекциях / Т. С. Петренко // Современные достижения медицинской и фармацевтической науки: I междунар. интернет-конференция молодых ученых, Запорожье, 23-25 окт. 2012 г. / Запорожский гос. мед. ун-т; редкол.: Ю. М. Колесник [и др.]. – Запорожье, 2012.

25. Петренко, Т. С. Интенсивность свободнорадикальных процессов в плазме и слюне у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей / Т. С. Петренко // Актуальные вопросы современной медицины: сб. тезисов междунар. науч. конф. студентов и молодых учёных Харьковского нац. ун-та им. В. Н. Каразина, Харьков, 18-19 апр. 2013 г. / Харьковский нац. ун-т им. В. Н. Каразина. – Харьков, 2013. – С. 150.

Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение

26. Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение «Способ определения активности воспалительного процесса у больных с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей» от 05.08.2013 г. № а 20130698 МПК G01N 33/52,48 / Т. С. Петренко, И. А. Новикова, А. С. Прокопович.

Рационализаторские предложения

27. Удостоверение на рационализаторское предложение: «Усовершенствование метода люминолзависимой хемиллюминесценции плазмы крови» от 18.06.2012 № 1137 / Т. С. Петренко, А. В. Гомоляко, И. А. Новикова.

28. Удостоверение на рационализаторское предложение «Оптимизация способа оценки антиоксидантных свойств биологических жидкостей» от 28.02.2013 № 1160 / Т. С. Петренко, И. А. Новикова, А. С. Прокопович.

29. Удостоверение на рационализаторское предложение «Усовершенствованный подход к оценке про/антиоксидантных свойств плазмы крови методом люминолзависимой хемиллюминесценции» от 03.06.2013 № 327 / Т. С. Петренко, И. А. Новикова, А. С. Прокопович.

РЕЗЮМЕ

Петренко Татьяна Станиславовна

Комплексное исследование про-/антиоксидантного и иммунного статуса при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей

Ключевые слова: рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей (РИВДП), баланс про-/антиоксидантов, иммунограмма, перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная защита (АОЗ), люминолзависимая хемилюминесценция (ЛЗХЛ).

Объект исследования: периферическая кровь и смешанная слюна пациентов с РИВДП и здоровых лиц.

Предмет исследования: продукты ПОЛ в плазме, эритроцитах и смешанной слюне: первичные – диеновые конъюгаты (ДК), вторичные – кетодиены (КД), конечные – основания Шиффа (ОШ); АОЗ – церулоплазмин (ЦП), активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах, показатели ЛЗХЛ в плазме крови и смешанной слюне; показатели иммунного статуса.

Цель исследования: оптимизировать методы оценки состояния про-/антиоксидантной системы с использованием различного биологического материала и обосновать их применение в сочетании с методами оценки иммунного статуса в качестве лабораторных критериев мониторинга заболевания у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей.

Методы: биохимические, иммунологические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: доказана целесообразность и преимущества включения в комплекс лабораторного обследования пациентов с РИВДП определения содержания минорных субпопуляций лимфоцитов, КД нейтральных липидов и I_{max} плазмы крови и смешанной слюны, которые можно использовать для оценки активности воспалительного процесса. Разработаны лабораторные подходы к оценке про-/антиоксидантного баланса в различном биологическом материале на основе метода ЛЗХЛ. Продемонстрирована возможность и преимущества использования смешанной слюны в качестве альтернативного материала для оценки активности свободнорадикального окисления. Установлен характер взаимосвязей между показателями иммунного статуса и параметрами системы свободнорадикального окисления. Выявлены нарушения про-/антиоксидантного баланса и иммунного статуса, в том числе и функциональной активности нейтрофилов при обследовании пациентов в динамике инфекционного процесса (обострение-ремиссия).

Рекомендации по использованию: оценка активности инфекционно-воспалительного процесса, прогнозирование эффективности лечения РИВДП, лабораторного подтверждения и мониторинга вторичной иммунологической недостаточности.

Область применения: клиническая лабораторная диагностика, клиническая иммунология, оториноларингология, педиатрия.

РЭЗІЮМЭ

Пятрэнка Таццяна Станіславаўна

Комплекснае даследаванне пра-/антыаксідантнага і імуннага статусу пры рэцыдывавальных інфекцыях верхніх дыхальных шляхоў

Ключавыя словы: рэцыдывавальныя інфекцыі верхніх дыхальных шляхоў (РІВДШ), баланс пра-/антыаксідантаў, імунаграма, перакіснае акісленне ліпідаў (ПАЛ), антыаксідантная абарона (ААА), люмінолзалежная хемілюмінесцэнцыя (ЛЗХЛ).

Аб'ект даследавання: перыферычная кроў і змешаная сліна пацыентаў з РІВДШ і здаровых асоб.

Прадмет даследавання: прадукты ПАЛ у плазме, эрытрацытах і змешанай сліне: першасныя – дыеновыя кон'югаты (ДК), другасныя – кетодыены (КД), канчатковыя – асновы Шыфа (АШ); ААА: цэрулаплазмін (ЦП), актыўнасць супераксіддысмутазы і каталазы ў эрытрацытах, паказчыкі ЛЗХЛ у плазме крыві і змешанай сліне; паказчыкі імуннага статусу.

Мэта даследавання: аптымізаваць метады ацэнкі стану пра-/антыаксідантнай сістэмы з выкарыстаннем рознага біялагічнага матэрыялу і абгрунтаваць іх прымяненне ў спалучэнні з метадамі ацэнкі імуннага статусу ў якасці лабараторных крытэрыяў маніторынгу захворвання ў пацыентаў з рэцыдывавальнымі інфекцыямі верхніх дыхальных шляхоў.

Метады: біяхімічныя, імуналагічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: даказана мэтазгоднасць і перавагі ўключэння ў комплекс лабараторнага абследавання пацыентаў з РІВДШ вызначэння ўтрымання мінорных субпапуляцый лімфацытаў, КД нейтральных ліпідаў і Ітах плазмы крыві і змешанай сліны, якія можна выкарыстоўваць для ацэнкі актыўнасці запаленчага працэсу. Распрацаваны лабараторныя падыходы да ацэнкі пра-/антыаксідантнага балансу ў розным біялагічным матэрыяле на аснове метаду ЛЗХЛ. Прадэманстравана магчымасць і перавагі выкарыстання змешанай сліны ў якасці альтэрнатыўнага матэрыялу для ацэнкі актыўнасці свабоднарадыкальнага акіслення. Усталяваны характар узаемасувязяў паміж паказчыкамі імуннага статусу і параметрамі сістэмы свабоднарадыкальнага акіслення. Выяўлены парушэнні пра-/антыаксідантнага балансу і імуннага статусу, у тым ліку і функцыянальнай актыўнасці нейтрафілаў пры абследаванні пацыентаў у дынаміцы інфекцыйнага працэсу (абвастрэнне-рэмісія).

Рэкамендацыі па выкарыстанні: ацэнка актыўнасці інфекцыйна-запаленчага працэсу, прагназаванне эфектыўнасці лячэння РІВДШ, лабараторнага пацверджання і маніторынгу другаснай імуналагічнай недастатковасці.

Вобласць ужывання: клінічная лабараторная дыягностыка, клінічная імуналогія, атарыналарынгалогія, педыятрыя.

SUMMARY

Petrenko Tatyana Stanislavovna

The comprehensive study of the pro-/antioxidative and immune status in recurrent infections of the upper respiratory tract

Key words: recurrent infections of the upper respiratory tract (RIURT), the balance of pro-/antioxidants, immune status, lipids peroxidation, antioxidant defence system (ADS), luminal-dependent chemiluminescence (LDHL).

Object of the research: peripheral blood and mixed saliva of patients with RIURT and healthy persons.

Subject of research: the peroxidation products in plasma, erythrocytes and mixed saliva: primary – diene conjugates, secondary – ketodienes, the final – Schiff bases; ADS: ceruloplasmin in plasma and mixed saliva, activity of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes, indicators LDHL in plasma and mixed saliva; parameters of immune status.

Purpose of research: to optimize the methods for assessment of pro-/ antioxidant system using a variety of biological material and to justify their use in combination with the methods of immune status evaluation as a laboratory criteria for disease monitoring in patients with recurrent infections of the upper respiratory tract.

Methods: biochemical, immunological and statistical.

Obtained results and their novelty: the practicability and advantages of determination of minor subpopulations of lymphocytes, ketodienes neutral lipids and I_{max} in blood plasma and mixed saliva in the complex laboratory evaluation of patients with RIURT were proved. These tests can be used to evaluate the activity of the inflammatory process. Laboratory approaches to the assessment of pro-/antioxidant balance in a variety of biological material based on the method of LDHL were developed. The possibility and advantages of using mixed saliva as an alternative material to evaluate the activity of free radical oxidation was demonstrated. The character of the relationships between indicators of immune status and parameters of free radical oxidation system was revealed. Disorders of the pro-/antioxidant balance and immune status, including the number and functional activity of neutrophils in the examination of patients in the dynamics of infectious process (exacerbation-remission) were revealed.

Recommendations for use: evaluation of the activity of infectious-inflammatory process, prediction of treatment efficacy RIURT, laboratory confirmation and monitoring of secondary immune deficiency.

Field of application: clinical laboratory diagnostics, clinical immunology, otolaryngology, pediatrics.

Научное издание

ПЕТРЕНКО
ТАТЬЯНА СТАНИСЛАВОВНА

**Комплексное исследование про-/антиоксидантного и иммунного статуса
при рецидивирующих инфекциях верхних дыхательных путей**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Подписано в печать 30.01.15.

Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная 80 г/м². Гарнитура «Таймс»

Ризография. Усл. печ.л. 1,39. Уч.-изд. Л.1,48.

Тираж 50 экз. Заказ № 550

Издатель и полиграфическое исполнение
Гомельский государственный
технический университет имени П.О. Сухого
Свидетельство о гос. регистрации в качестве издателя
печатных изданий за №1/273 от 04.04.2014 г.
246000, г. Гомель, пр. Октября, 48.