Введение

Актуальной проблемой педиатрии и практического здравоохранения до сих пор остается патология лимфоглоточного кольца у детей. Практически каждый ребенок раннего возраста с часто рецидивирующими инфекциями респираторного тракта имеет клинические проявления хронического аденоидита [4, 5]. Необходимо отметить, что глоточная миндалина, входящая в состав лимфоглоточного кольца Вальдейера, как организованная лимфоидная ткань слизистых оболочек активно участвует в иммуногенезе [1].

В настоящее время не вызывает сомнений, что в основе функциональных проявлений лимфоцитов - основного структурно - функционального элемента иммунной системы лежат их метаболические реакции. Уже через несколько секунд после контакта лимфоцита с антигеном или митогеном в клеточной мембране активируется Na+, K+- АТФаза, повышается уровень мембранных метилтрансфераз, возрастает поток Ca++ внутрь клетки, который является необходимым условием для осуществления процессов приводящих к активации гуанилатциклазы и ингибированию адениламциклазы [13].

С первых минут пролиферации в лимфоцитах увеличивается потребление аденозинтрифосфата (АТФ). Активация энергетического обмена во время пролиферативной активности проявляется не только в ускорении обмена АТФ, но и в увеличении синтеза пиридиннуклеотидов [14, 15]. Установлена зависимость экспрессии на лимфоцитах крови CD4+ и CD8+- антигенов от внутриклеточной концентрации аденозина и аденозиндифосфорной кислоты [6].

Высокую значимость в поддержании функциональной активности лимфоцитов имеют глутатион и ферменты глутатионового метаболизма. Обнаружено, что глутатион может непосредственно модулировать пролиферацию Т-лимфоцитов [10, 11, 12].

Наряду с изменением в активированных лимфоцитах интенсивности ионного транспорта, синтеза макроэргов, и нуклеотидов, а также уровня дыхания, не остается постоянной и активность ферментов.

Особенно высокой информативностью для исследования метаболизма активированных лимфоцитов обладают окислительно - восстановительные ферменты. Это связано с тем, что являясь основными переносчиками электронов в клетке, они осуществляют ключевые реакции клеточного метаболизма и координируют сопряженные метаболические пути [8]. Исследования проведенные нами ранее выявили у детей с гипертрофией глоточной миндалины изменения фенотипического спектра лимфоцитов периферической крови [3]. При изучении активности НАД(Ф)- зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови у детей раннего возраста с гипертрофией глоточной миндалины нами установлено повышение оттока субстратов через глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу на пластические процессы, снижение интенсивности анаэробного окисления глюкозы и роли малатаспартатного шунта в энергетическом внутриклеточном обмене, а также уменьшение активности глутатионредуктазы. В то же время в лимфоцитах крови у детей с гипертрофией глоточной миндалины наблюдается высокий уровень субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, вносящему наибольший вклад в процессы внутриклеточного энергообразования. При этом уровень субстратного взаимодействия между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена снижен [2, 3].

В связи с вышеизложенным целью исследования явилось изучение корреляционный зависимости между иммунофенотипом и показателями активности НАД(Ф)- зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей раннего возраста с гипертрофией глоточной миндалины.

Материалы и методы

Обследовано 57 детей в возрасте от 1 года до 3 лет (средний возраст 2,26±0,76 лет) с гипертрофией глоточной миндалины (ГГМ), из них 32 (56,14%) мальчика и 25 (43,86%) девочек. Диагноз гипертрофии глоточной миндалины был установлен на основании жалоб, клинической (затруднение носового дыхания, дыхание через рот, отделяемое из носа, храп в ночное время) и эндоскопической (наличие аденоидных вегетаций II, III степени в полости носоглотки) картины. Включением в исследование являлось отсутствие терапии в течение месяца, предшествующего обследованию.

Контрольную группу составили 35 здоровых детей в возрасте 1-3 лет (средний возраст 2,14±0,84 года), из них 19 (54,29%) мальчиков и 16 (45,71%) девочек.

Мононуклеары выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколл - верографина [9]. Методом проточной цитофлуориметрии с использованием прибора «FACSCallibur» (Becton Diskinson, США) и реагентов «Simultest IMK- lymphocyte Kit» (США), определяли содержание CD3+-, CD4+-, CD8+-, CD19+-, CD16+/56+-, в периферической крови.

В лимфоцитах периферической крови осуществляли биолюминесцентное определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), НАД- и НАДН- зависимой лактатдегидрогеназы (НАДЛДГ, НАДНЛДГ), НАД- и НАДН- зависимой малатдегидрогеназы (НАДМДГ, НАДНМДГ), НАД- и НАДН- зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ, НАДНГДГ), НАДФ- и НАДФН- зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ, НАДФНГДГ), НАД- и НАДФ- зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ, НАДФИЦДГ), малатдегидрогеназы декарбоксилирующей (НАДФМДГ) и глутатионредуктазы (ГР) [7].

Активность исследуемых оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах [1Е= 1 мкмоль/мин.] на 104 клеток. Исследование проводили на ферментативном препарате NAD(P): FNM оксидоредуктаза - люцифераза из *Photobacterium leiognathi*. Измерение уровня биолюминесценции осуществляли на биолюминометре «БЛМ 8801» (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «Statistica v.6.0» (StatSoft Ins., США). Нормальность распределения показателей определялась с помощью метода Колмогорова – Смирнова (с поправкой Лильефорса). Количественные показатели, учитывая, нормальное распределение, описывались с использованием средних арифметических значений (M) и стандартной ошибки среднего (± m). Для изучения статистической значимости различий между количественными признаками представленных групп применяли t-критерий Стьюдента. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Пирсону (r). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

При сравнении структуры корреляционных связей между показателями активности исследуемых оксидоредуктаз и фенотипом лимфоцитов периферической крови у детей контрольной группы (рис. 1) и у детей с ГГМ (рис. 2) обнаружено увеличение в корреляционной картине количества положительных связей в группе детей с ГГМ.

Результаты проведенного анализа выявили различия в корреляционной картине в сравниваемых группах детей. Так, у детей контрольной группы показатели активности НАДЛДГ имели положительную средней силы корреляционную связь с абсолютным числом В- лимфоцитов периферической крови (r= 0,67; p< 0,001).

У детей с ГГМ показатели активности НАДЛДГ находились в прямой взаимозависимости с абсолютным числом CD8+- клеток (r= 0,33; p< 0,05).

Уровень активности НАДНМДГ в группе детей с ГГМ был положительно взаимосвязан с процентным содержанием и абсолютным числом CD8+- клеток (r= 0,33; p< 0,05; r= 0,32; p< 0,05 соответственно). У детей контрольной группы показатели активности НАДНМДГ находились в обратной взаимозависимости с процентным содержанием В- лимфоцитов периферической крови и абсолютным числом CD8+- клеток (r= - 0,39; p< 0,05; r= - 0,43; p< 0,05 соответственно).

Кроме того различия в корреляционной картине, обнаруженные в сравниваемых группах детей, заключались в наличии у детей контрольной группы положительной взаимосвязи с высоким коэффициентом корреляции (r= 0,74; p< 0,001) между показателями активности обратной реакции НАДНГДГ и абсолютным числом зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), в то время как в группе детей с ГГМ отмечалась отрицательная с низким коэффициентом корреляции взаимосвязь активности прямой реакции НАДФГДГ с процентным содержанием зрелых Т- лимфоцитов (r= - 0,32; p< 0,05).

Изучение взаимосвязей между показателями активности НАДНГДГ и фенотипом лимфоцитов периферической крови выявило однонаправленность корреляционных связей в наблюдаемых группах детей (рис. 1, 2). Однако, количество и прочность корреляционных связей в контрольной группе оказались выше, чем в группе детей с ГГМ (рис. 1, 2).

Оценка корреляционной картины показала, что только у детей контрольной группы показатели активности НАДНЛДГ находились в корреляционной зависимости с фенотипом лимфоцитов крови (рис. 1). В то же время только в группе детей с ГГМ показатели активности малик- фермента (НАДФМДГ) коррелировали с фенотипом лимфоцитов периферической крови (рис. 2).

Следует отметить появление в группе детей с ГГМ корреляционных связей между показателями активности глутатионредуктазы и фенотипом лимфоцитов крови, отсутствующие у детей контрольной группы (рис. 1, 2).

С помощью корреляционного анализа мы попытались охарактеризовать взаимоотношения фенотипа и ферментного статуса лимфоцитов периферической крови у детей раннего возраста с ГГМ.

Результаты проведенного анализа установили преобладание в корреляционной картине в группе детей с ГГМ положительных связей между изучаемыми показателями. При этом известно, что число корреляционных связей возрастает с усилением функциональной нагрузки на биологическую систему [8]. В то же время, следует отметить невысокие коэффициенты корреляции выявленных взаимосвязей в группе детей с ГГМ, что отражает недостаточную прочность установленных корреляционных связей.

При оценке полученных данных обнаружено, что в группе детей с ГГМ глутатионредуктаза является метаболическим ферментом, имеющим наибольшее количество взаимосвязей с показателями, характеризующими фенотип лимфоцитов периферической крови. Можно предположить, что появление данных взаимосвязей определяется ролью фермента в реакциях внутриклеточного метаболизма. Так, известна роль глутатионредуктазы в процессах пролиферации Т-лимфоцитов [11, 12], что, вероятно, и характеризуется корреляционными связями данного энзима с количество зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), CD4+- и CD8+- клеток.

По данным корреляционного анализа наибольшее количество связей с показателями активности исследуемых внутриклеточных ферментов обнаружено у лимфоцитов с фенотипом CD8+, обладающих цитотоксическим потенциалом по отношению к инфицированным вирусами клеткам и играющих ведущую роль в специфической защите организма от внутриклеточных патогенов.

Таким образом, у детей раннего возраста с гипертрофией глоточной миндалины в лимфоцитах периферической крови выявлены взаимосвязи иммунофенотипа с показателями активности НАД(Ф)- зависимых дегидрогеназ.

Заключение

Результаты проведенного исследования установили особенности взаимоотношений между фенотипом и показателями активности НАД(Ф)- зависимых дегидрогеназ лимфоцитов периферической крови у детей раннего возраста с гипертрофией глоточной миндалины, определяемые количеством, направленностью и силой корреляционных связей.

Следует отметить, что полученные нами данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения метаболических механизмов, лежащих в основе функциональной активности клетки, в разных субпопуляциях лимфоидных клеток и определить какое клиническое значение имеют их изменения у детей с гипертрофией глоточной миндалины.