

Н.В. Стабровская^{1,2*}, В.П. Иванов^{1,2}, Е.В. Трубникова^{1,2},
А.Д. Богомазов¹, А.А. Дедков¹, Е.Л. Полякова¹

УДК 616.211-002(045)

¹ ГОУ ВПО Курский государственный медицинский университет, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии

² ГОУ ВПО Курский государственный университет, научно-исследовательская лаборатория «Генетика»

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С АКТИВНОСТЬЮ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА КЛЕТКИ

Резюме

В работе описаны клинические и цитогенетические особенности детей с аллергическим ринитом (АР). Получены данные об изменении функциональной активности рибосомных генов (РГ) при АР у детей. Экспериментально установлено, что при АР происходит снижение общей функциональной активности РГ по сравнению с контрольной группой. Также показатели функциональной активности РГ взаимосвязаны с показателями клинического течения АР, что может являться дополнительной характеристикой при прогнозировании развития заболевания.

Ключевые слова: аллергический ринит, рибосомные гены.

Abstract

This article describes clinical and cytogenetic peculiarities of children's allergic rhinitis. The dates of changes of the functional activity of ribosomal genes at children's allergic rhinitis are received. It is experimentally established that the general functional activity of ribosomal genes at children's allergic rhinitis is less than at healthy children. Also indexes of the functional activity of ribosomal genes are interconnected with the indices of the clinical course of allergic rhinitis. It can be additional characteristic during the prognostication of disease development.

Key words: allergic rhinitis, ribosomal genes.

Аллергические заболевания детского возраста — одна из актуальных проблем современной педиатрии. Они характеризуются широкой распространенностью, постоянно растет их количество и тяжесть течения. Это связано прежде всего с ухудшением экологической обстановки, увеличением выброса выхлопных газов, отходов промышленных производств, появлением в быту множества синтетических материалов, красителей и других веществ, которые являются потенциальными аллергенами, и, следовательно, способствуют возникновению и распространению аллергических заболеваний. Широкое и бесконтрольное использование лекарственных препаратов также приводит к росту числа аллергических реакций. Повышенная чувствительность к лекарственным веществам часто возникает вследствие необоснованного применения одновременно нескольких препаратов, бесконтрольного приема антибиотиков, недостаточных знаний врачами фармакокинетики лекарственных препаратов. В возникновении аллергических заболеваний также играют роль характер питания, наследственный

фактор, наличие сопутствующей общесоматической патологии и др.

В патогенезе аллергопатологий многие вопросы остаются открытыми. Однако неоспоримым является тот факт, что в основе их формирования лежит комплекс генетических, иммунных и средовых факторов. Большинство исследований в области детской аллергологии направлены на поиск таких показателей, которые могут быть связаны с наибольшим числом морфофункциональных систем организма. Одним из таких показателей может считаться активность белоксинтезирующего аппарата клетки, отражением работы которого служит функциональная активность рибосомных генов (ФАРГ).

К настоящему времени накоплены данные по исследованию ФАРГ при различных мультифакторных патологиях. Изучены изменения активности рибосомных генов (РГ), а также их взаимосвязь с фенотипическими проявлениями при различных опухолевых заболеваниях (злокачественных лимфомах,

* Контакты. E-mail: star_n@inbox.ru. Телефон: (4712) 58-81-47

острых лейкозах), при язвенных поражениях желудка и двенадцатиперстной кишки, миомах матки, ревматоидном артрите и т.д.

В то же время в литературе крайне скудно освещены вопросы, касающиеся комплексной оценки работы белоксинтезирующего аппарата и фенотипических проявлений при аллергопатологии детского возраста, в том числе при АР.

АР является одной из самых распространенных аллергических патологий. В основе его лежит аллергическое воспаление слизистой оболочки полости носа, вызываемое причинно-значимым аллергеном, клинически проявляющееся обильной ринореей, назальной блокадой, зудом в полости носа, повторяющимся чиханием и нередко аносмией.

АР — весьма распространенное заболевание, встречающееся во многих развитых странах мира и поражающее около 10–20% общей популяции. В последнее десятилетие отмечается увеличение частоты встречаемости АР в 4–6 раз. Показано, что наиболее часто АР встречается у детей 13–14 лет. При этом отмечают гиподиагностику и позднюю диагностику АР (у большинства детей этот диагноз ставится в 6–8 лет, тогда как первые его проявления отмечаются, как правило, уже со 2-го года жизни) [5, 6, 8].

Непосредственной причиной АР является сенсibilизация к аллергенам клещей домашней пыли (*Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*), домашних и синантропных животных и насекомых, спорам плесневых грибов, распространенных в домах (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Candida*) и т.д. Также течение АР часто усугубляется сенсibilизацией к пыльце растений. Реже причиной обострения является сенсibilизация к пищевым и лекарственным аллергенам [4, 6, 12].

К основным факторам риска возникновения АР относят наследственную предрасположенность к аллергическим заболеваниям, курение матери во время беременности, а также пассивное курение детей, инфекционные заболевания у матери во время беременности, неблагоприятную экологическую обстановку [2, 5].

Ринит является IgE-опосредованным заболеванием и относится к аллергическим реакциям немедленного типа. Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что АР часто сочетается с бронхиальной астмой. По данным многих авторов, у 45% больных АР предшествует появлению астмы, 35% заболевают одновременно АР и бронхиальной астмой, и лишь у 20% астма появляется раньше ринита. Воспалительный ответ в слизистой оболочке как верхних, так и нижних дыхательных путей поддерживается и усиливается взаимосвязанными

механизмами. При этом провокация бронхов может вызывать воспаление слизистой оболочки полости носа и наоборот [1–3].

Все вышеизложенное определило актуальность исследования показателей белоксинтезирующего аппарата при АР на примере исследования функциональной активности РГ.

Целью представленной работы стало изучение взаимозависимости показателей функциональной активности РГ и клинической картины АР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клиническая картина заболевания изучалась на выборке из 67 детей в возрасте от 1 года до 14 лет с верифицированным диагнозом АР, постоянно проживающих на территории Курской области. Контрольную группу составили 50 относительно здоровых детей.

Получение хромосомных препаратов проводили по стандартной методике полумикрометодом из лимфоцитов периферической крови человека. Методика получения цитогенетических препаратов включала ряд последовательных процедур: постановка культуры клеток на посев, колхицинизация, гипотонизация, фиксация, дифференциальное окрашивание с использованием нитрата серебра (Ag-окрашивание). Для выявления районов ядрышкообразующих организмов использовался метод дифференциальной окраски хромосом нитратом серебра, предложенный Howell и Black [10, 13, 14].

Для каждого случая средний показатель суммарной активности 10 ядрышкообразующих районов (ЯОР) рассчитывался без кариотипирования хромосом в 20 клетках. Количество активных РГ лимфоцитов периферической крови оценивалось визуально по 5-балльной шкале: 0 — отсутствие окраски; 1 — слабая окраска (размер преципитата серебра меньше ширины хроматиды); 2 — средняя (размер преципитата серебра не больше ширины хроматиды); 3 — сильная (размер преципитата серебра больше ширины хроматиды); 4 — очень сильная (Ag-блоки представлены крупными конгломератами). Для анализа отбирались метафазные пластинки с завершенной Ag-окраской.

Помимо оценки общей функциональной активности РГ учитывались показатели их активности отдельно по хромосомам групп D и G. Также подсчитывалось число активных рибосомных цистронов (число окрашенных метафазных хромосом) и учитывалась ассоциативная активность. За ассоциацию принималась структура, состоящая из акроцентрических хромосом, взаимно ориентированных короткими плечами с расстоянием между ними менее

толщины хроматиды. Для индивида подсчитывалось среднее число хромосом в ассоциациях и среднее число ассоциаций акроцентрических хромосом на одну клетку.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета прикладных компьютерных программ STATISTICA 6.0 фирмы StatSoft Inc. (США) и MS Excel. Обработка данных осуществлялась по стандартным методикам вариационной статистики [7, 9, 11].

Распределение выборки соответствовало нормальному, поэтому при описании количественных признаков использовались параметры нормального распределения: среднее значение ($\bar{X}$), стандартная ошибка ($S_{\bar{X}}$), среднеквадратичное отклонение (σ), минимальные и максимальные значения признака ($\min$, $\max$), несмещенная дисперсия (σ^2) [7, 11]. При обработке качественных показателей вычислялись размер выборочной доли в процентах и ошибка выборочной доли. Для проверки достоверности различий между совокупностями использовались параметрические критерии Стьюдента (t) и Фишера (F) [11]. Уровень статистической значимости различий принимали $p < 0,05$.

Для выявления связей между признаками использовался корреляционный анализ. Сравнение корреляционных матриц проводилось с помощью дискриминантного анализа. При этом вычислялось F -отношение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование клинической картины детей с АР показало следующие результаты.

Средний возраст манифеста заболевания составил 5,82 года. В среднем в первый год заболевания наблюдалось 4,51 обострения у одного индивида. Основными триггерами дебюта заболевания в большинстве случаев служили острое респираторное заболевание (46,27%), перемена погоды (13,43%) и различные экологические воздействия (13,73%). Основными факторами, провоцирующими обострения, в большинстве случаев были перенесенное ОРЗ (43,28%) и изменение метеоситуации (22,39%). Также у многих детей вызывали обострения пищевые аллергены и бытовая пыль (по 10,45%). В то же время в большинстве случаев обострения не были связаны с определенным временем года (59,7%), в 20,9% обострения возникали осенью, в 11,94% — весной.

Наибольшая сенсibilизация была выявлена к пыльцевым аллергенам (49,23%), что соответствует литературным данным [2, 6, 8]. В 23,08% случаев отсутствовала сенсibilизация к какой-либо определенной группе аллергенов.

В качестве сопутствующих заболеваний в 20,9% случаев наблюдалась бронхиальная астма, в 17,91% — атопический дерматит, в 14,93% — аллергический конъюнктивит, в 14,93% — хронический бронхит.

У большинства пациентов наблюдался АР средней степени тяжести (82,09%), в легкой форме заболевание протекало в 16,42% наблюдений. Тяжелые формы АР регистрировались лишь в 1,49% случаев. По характеру течения заболевание протекало стабильно у 73,13% детей, в 20,9% случаев наблюдалось улучшение течения заболевания с момента верификации диагноза. При этом на момент исследования большинство детей находились в состоянии неполной ремиссии (91,04%), в состоянии обострения

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей ФАРГ при аллергическом рините у детей и в норме

№	Показатель	АР (N = 67)		Контроль (N = 50)		t	F
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	σ^2	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	σ^2		
1	ФАРГ по 10 хромосомам	18,77 $\pm$ 0,16	1,80	19,38 $\pm$ 0,22	2,33	2,31*	1,29
2	ФАРГ по D-хромосомам	11,27 $\pm$ 0,15	1,48	11,66 $\pm$ 0,17	1,46	1,72	1,01
3	ФАРГ по G-хромосомам	7,5 $\pm$ 0,14	1,26	7,72 $\pm$ 0,19	1,75	1	1,39
4	Число активных рибосомных цистронов	8,52 $\pm$ 0,07	0,3	8,63 $\pm$ 0,08	0,35	1,04	1,18
5	Число ассоциаций акроцентрических хромосом	0,82 $\pm$ 0,04	0,12	0,81 $\pm$ 0,05	0,13	0,12	1,06
6	Число акроцентрических хромосом, вступивших в ассоциации	1,81 $\pm$ 0,1	0,64	1,77 $\pm$ 0,12	0,69	0,26	1,08

* — различия статистически достоверны при $p < 0,05$.

находились 5,97% обследуемых, в состоянии полной ремиссии — 2,99%.

В 58,21% случаев наблюдалась периодическая заложенность носа, в 40,3% — постоянная. Зуд носа наблюдался периодически в 64,18% случаев, постоянно — в 25,37%, отсутствовал у 10,45% обследуемых. Изучение отделяемого показало, что в большинстве случаев оно носило слизисто-гнойный характер (86,57%), в 8,95% — слизистый и в 4,48% — гнойный.

Изучение иммунограммы показало, что содержание сывороточного иммуноглобулина Е у детей с АР в среднем составляет 301,60 МЕ. Также детям была проведена циториноскопия. При этом содержание лимфоцитов в крови было 6,58%, нейтрофилов — 76,68%, эозинофилов — 12,27%.

Проведенное цитогенетическое исследование показало, что ФАРГ при АР составляет 18,76 условных единиц, что ниже данного показателя в контрольной группе детей (различия достоверны, $t = 2,31$). При этом по остальным показателям ФАРГ различий между группой детей с АР и контрольной группой обнаружено не было. Описанные данные представлены в табл. 1.

Для выявления более тесных связей в работе белоксинтезирующего аппарата клетки между группой детей с АР и контрольной группой был проведен корреляционный анализ. Матрица корреляций показателей ФАРГ детей с АР представлена на рисунке. Анализ представленной матрицы свидетельствует о наличии тесной взаимосвязи показателей ФАРГ между собой.

Использование линейно-дискриминантного анализа позволило сравнить матрицы корреляций группы детей с АР и контрольной группы между собой.

Группа детей с АР

	1	2	3	4	5	6
1	1,00					
2	0,61	1,00				
3	0,50	-0,38	1,00			
4	0,47	0,23	0,29	1,00		
5	0,07	0,13	-0,06	0,13	1,00	
6	0,06	0,14	-0,09	0,07	0,96	1,00

Таблица 2. Величина F-отношения между корреляционными матрицами показателей ФАРГ в сравниваемых группах

Величина F	
Наблюдаемое значение	5,36*
Теоретически ожидаемое	2,21

* — различия статистически достоверны при $p < 0,05$.

Величина полученного F-отношения превышает табличное значение и свидетельствует о наличии статистически значимых различий в характере взаимодействия показателей ФАРГ между собой в группе детей с АР и контрольной группе (табл. 2).

Уменьшение ФАРГ при АР по сравнению с контролем свидетельствует о существенных изменениях в работе белоксинтезирующего аппарата клетки.

Исходя из поставленной цели, необходимым оказалось выявление взаимосвязи уровня экспрессии РГ и клинических особенностей течения АР.

Анализ связи клинических характеристик с уровнем экспрессии РГ позволил выявить ряд корреляционных взаимосвязей на статистически значимом уровне между рассматриваемыми показателями. Так, уровень общей ФАРГ коррелировал с показателем числа лимфоцитов по данным циториноскопии, связь носила прямой характер ($r = 0,28$), с показателем количества лимфоцитов по данным циториноскопии в прямой корреляционной зависимости был уровень ФАРГ по D-хромосомам ($r = 0,27$). С количественным содержанием эозинофилов по данным циториноскопии в прямой корреляционной зависимости находился показатель ФАРГ по G-хромосомам ($r = 0,30$). В то же время

Контрольная группа

	1	2	3	4	5	6
1	1,00					
2	0,55	1,00				
3	0,65	-0,27	1,00			
4	0,55	0,16	0,49	1,00		
5	-0,10	0,06	-0,16	-0,02	1,00	
6	-0,10	0,07	-0,18	-0,02	0,98	1,00

Матрица корреляций показателей функциональной активности РГ у детей с АР и контрольной группы.

Примечание. Выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$). 1 — ФАРГ, 2 — ФАРГ по D-хромосомам, 3 — ФАРГ по G-хромосомам, 4 — количество активных рибосомных цистронов, 5 — число ассоциаций акроцентрических хромосом, 6 — число акроцентрических хромосом, вступивших в ассоциации

Таблица 3. Матрица корреляций клинических и цитогенетических характеристик детей с АР

№	Показатель	Период заболевания	Заложенность носа	Циториноскопия лимфоцитов, %	Циториноскопия эозинофилов, %
1	ФАРГ по 10 хромосомам	-	-	0,28	-
2	ФАРГ по D-хромосомам	-	-	0,27	-
3	ФАРГ по G-хромосомам	-	-	-	0,30
4	Число активных рибосомных цистронов	-	0,26	-	-
5	Число акроцентрических хромосом, вступивших в ассоциации	0,29	-	-	-

Примечание. - — не исследовалось.

установлена корреляционная связь обратной направленности между количеством активных рибосомных цистронов и характером заложности носа ребенка ($r = -0,26$). Также необходимо отметить статистически значимую корреляционную связь прямой направленности показателя периода заболевания ребенка с показателем числа хромосом, вступивших в ассоциации ($r = 0,29$). Таким образом, на стадии ремиссии увеличивается экспрессия РГ. Корреляционная матрица клинических характеристик представлена в табл. 3.

Выводы

1. При АР наблюдается снижение уровня функциональной активности РГ по сравнению с контрольной группой, при этом также выявлены различия в характере взаимодействия показателей ФАРГ между собой в контрольной и экспериментальной группах.

2. Обнаружены корреляционные взаимосвязи показателей ФАРГ и клинических характеристик детей с АР. Обнаружены взаимосвязи уровня экспрессии рибосомных генов с показателями циториноскопии, а также с характером течения заболевания. Связи носят слабовыраженный и умеренный характер.

3. Наличие корреляционной взаимосвязи периода заболевания и одного из показателей ФАРГ может являться дополнительной характеристикой при прогнозировании развития заболевания.

А

Список литературы

1. Аллавердиева Л.И., Сафаралиева Э.С. Цитокиновый мониторинг у детей с аллергическим ринитом // Аллергология и иммунология. 2007. Т. 8, № 1. С. 29–30.

2. Аллергический ринит и его влияние на астму, 2008 г. Ч. 3 // Российский аллергологический журнал. 2010. № 1. С. 74–87.
3. Аллергический ринит и его влияние на течение астмы // Аллергология. 2001. № 3. С. 45–56.
4. Балаболкин И.И., Ефимова А.А., Бржовский М.М. и др. Влияние экологических факторов на распространенность и течение аллергических заболеваний у детей // Иммунология. 1991. № 4. С. 34–37.
5. Детская аллергология. Руководство для врачей / Под ред. А.А. Баранова, И.И. Балаболкина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 688 с.: ил.
6. Ильина Н.И. Аллергический ринит // Consilium Medicum. 2000. Т. 1, № 1.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биолог. специальностей вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. Школа, 1990. 352 с.
8. Намазова Л.С., Вознесенская Н.И., Торшхоева Р.М., Эфендиева Н.Е. Аллергический ринит // Consilium Medicum. 2002. Т. 5, № 10.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2006. 312 с.
10. Сабанаева Е.В. Специфичность окрашивания ядрышковых организаторов азотнокислым серебром // Цитология. 1989. Т. 31, № 1. С. 5–14.
11. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биохимических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 296 с.
12. Eneverri J.L., Cozzo M., Marin A.M. et al. Epidemiology and chronology of allergic diseases and their risk factors // Allergol. Immunopathol. 1998. Vol. 26. № 3. P. 90–97.
13. Howell W.M., Denton T.E., Piamons I.R. Differential staining of the satellite of human acrocentric chromosomes // Experientia. 1975. Vol. 31. P. 260–265.
14. Howell W.M. Visualization of ribosomal gene activity: silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes // Chromosome. 1977. Vol. 62, № 4. P. 1234–1238.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», 2009–2013 гг. ГК № 16.740.11.0746