

На правах рукописи

**БЕЛОНОВА
ЕЛЕНА ГЕОРГИЕВНА**

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА И ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ
АТОПИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ШКОЛЬНИКОВ В
ГИПЕРЭНДЕМИЧНОМ ОЧАГЕ O.FELINEUS**

14.01.08 – педиатрия

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

Томск – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель:

Деев Иван Анатольевич

кандидат медицинских наук

Официальные оппоненты:

Кондратьева Елена Ивановна

доктор медицинских наук,
профессор, профессор кафедры
педиатрии ФПК и ППС ГБОУ
ВПО СибГМУ
Минздравсоцразвития России

Степаненко Нина Петровна

кандидат медицинских наук,
научный руководитель
педиатрической группы ФГБУН
Томский НИИ курортологии и
физиотерапии ФМБА

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится «31» мая 2012г. в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.02 при ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

Автореферат разослан « 28 » апреля 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Тюкалова Л.И.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Аллергический ринит (АР) - наиболее распространенное атопическое заболевание, как во взрослой, так и в детской популяции. Актуальность проблемы обусловлена, прежде всего, ключевым предиктивным значением ринита в отношении развития бронхиальной астмы, а также влиянием на качество жизни больных [Баранов А.А., 2011; Braido F., 2012].

Значительный удельный вес аллергических болезней в структуре детской патологии диктует необходимость изучения закономерностей их распространения в различных популяциях.

Изучению эпидемиологии АР посвящено огромное количество исследований, однако, результат каждого из них, зависит от тех критериев диагноза ринита, которые исследователи использовали при планировании работы. В этой связи ведущими специалистами Европы была разработана стандартизированная программа «Международное исследование астмы и аллергии у детей» (International Study of Asthma and Allergy in Childhood – ISSAC) [Asher M., 1995].

По данным эпидемиологического исследования ISAAC показатели распространенности АР в разных регионах значительно варьируют, что связано с влиянием климатогеографических, экологических, генетических факторов [Мачарадзе Д.Ш., 2006; Дыбунова Е.Л., 2007; Asher M., 2010]. Противоречивые данные получены при изучении распространенности симптомов ринита в зависимости от условий проживания; в одних исследованиях показана низкая частота заболевания в городе, в других – в сельской местности [Черняк Б.А., 2002; Riedle J., 2000; Viinanen A., 2007]. Среди факторов, оказывающих влияние на распространенность и течение АР, особая роль отводится инфекционным заболеваниям и гельминтным инвазиям [Romagnani S., 2004; Cooper P.J., 2009].

В связи с широкой распространенностью гельминтозов в отдельных регионах России существенно возрастает значимость исследований, изучающих механизмы формирования и поддержания аллергического воспаления при паразитарных инвазиях. Так, в Западной Сибири на территории Обь-Иртышского бассейна распространенность описторхоза в 1000 раз выше, чем в Европейской части России [Бронштейн А.М., 2004]. По результатам проведенного на базе Сибирского государственного медицинского университета (г.Томск) пилотного исследования, фактическая распространенность инвазии у жителей сельских районов Томской области достигает 32,8%, в г. Томске - 11,2%, в то время как распространенность аллергических болезней преобладает у городских детей [Огородова Л.М., 2006].

Как известно, иммунный ответ представляет собой комплекс эффекторных и супрессорных механизмов, направленных на сохранение постоянства внутренней среды. Дисбаланс в данной системе приводит к различным иммунным нарушениям, в частности аллергическим болезням, таким как АР. Но генетически детерминированная регуляция

иммунологических механизмов при аллергическом воспалении может быть изменена под воздействием экскреторно-секреторных протеинов паразита у инвазированных лиц, что может приводить к модификации клинического течения аллергических заболеваний [Wilson M.S., 2004; Yazdanbakhsh M., 2004].

Важная роль в механизмах формирования и регуляции иммунного ответа принадлежит регуляторным Т - клеткам (Treg) [Sakaguchi S., 2004; Vignali D.A., 2008]. Дефицит Treg или их повышенная активность приводят к развитию патологических состояний иммунной системы. В результате многолетних исследований выделено несколько субпопуляций регуляторных CD4⁺-лимфоцитов, основные из которых CD4⁺CD25^{high} -Т-лимфоциты, или натуральные Treg, а также Th3 и Т-регуляторы 1, или индуцибельные регуляторные клетки [Ярилин А.А., 2006; Свиридова В.С., 2010].

Роль регуляторных клеток в патогенезе аллергического ринита остается в настоящее время мало изученной. Лишь несколько исследований было посвящено особенностям функционирования Treg при астме и атопическом дерматите. На экспериментальных моделях животных показано, что Treg клетки могут подавлять Th-2 ответ на аллергены, эозинофилию в дыхательных путях, гиперсекрецию слизи и бронхиальную гиперреактивность [Nandakumar S., 2009]. Тем не менее, информация о состоянии регуляторных клеток при аллергических заболеваниях достаточно противоречива.

Клинические и эпидемиологические исследования последних лет демонстрируют важную роль Treg в патогенезе гельминтных инвазий [Cooper P.J., 2008]. В экспериментальном исследовании на модели астмы установлено достоверное повышение уровня Treg клеток в перибронхиальных лимфатических узлах у мышей, инфицированных *Heligmosomoides polygyrus* [Hartmann S., 2009]. По данным других исследований, при инвазии экспериментальных мышей *Shistosoma japonicum* отмечено подавление аллергического воспаления, и, напротив, дефицит Treg ассоциирован с активацией Th-2 воспаления и развитием аллергического заболевания [Pacífico L.G., 2009].

В этой связи, представляет актуальность исследование распространенности и клинических особенностей АР у детей в гиперэндемичном по описторхозной инвазии регионе, изучение роли антигенов *Opisthorchis felinus* в регуляции клеточного иммунного ответа у этих больных посредством оценки уровня Т-регуляторных клеток в периферической крови. Полученные данные имеют важное значение при разработке первичной профилактики аллергических заболеваний в эндемичных по гельминтным инвазиям регионах.

Цель: установить распространенность симптомов аллергического ринита и влияние факторов, определяющих формирование и особенности течения заболевания у детей, проживающих в гиперэндемичном по описторхозу регионе.

Задачи:

1. Оценить распространенность симптомов ринита в г. Томске и сельской местности Томской области в зависимости от возраста и пола.
2. Установить распространенность аллергического и неаллергического ринита в г. Томске и сельской местности Томской области.
3. Изучить факторы риска, ассоциированные с распространенностью аллергического ринита у детей, проживающих в г. Томске и сельской местности Томской области.
4. Провести сравнительную характеристику клинико-лабораторных показателей у детей, страдающих аллергическим ринитом и сочетанной патологией (аллергический ринит и хронический описторхоз).
5. Исследовать динамику клинических показателей и уровень Т-регуляторных клеток до, и после проведения дегельминтизации (спустя 6 месяцев) у больных сочетанной патологией (аллергический ринит и хронический описторхоз) и хроническим описторхозом.

Научная новизна. Впервые установлена распространенность симптомов АР у школьников г. Томска и сельской местности Томской области с использованием стандартизированного вопросника ISAAC. Показано, что распространенность симптомов подобных АР у детей достоверно выше в сельских районах, в сравнении с городскими школьниками.

Получены уникальные эпидемиологические данные о распространенности аллергического и неаллергического ринита и особенности его течения в гиперэндемичном очаге *O. felineus*. Установлено, что на фоне хронического описторхоза АР имеет более легкое течение.

Впервые изучено содержание Т-регуляторных клеток и их роль в регуляции иммунного ответа при сочетанной патологии (АР и хронический описторхоз) до и после антигельминтной терапии. Дана оценка взаимосвязи уровня Т-регуляторных клеток и основных клинико-лабораторных показателей при АР. Установлено, что при описторхозной инвазии уровень Т-регуляторных клеток повышается. Антигельминтная терапия приводит к достоверному снижению уровня Treg и к усилению аллергического воспаления верхних дыхательных путей, что свидетельствует о прекращении супрессивного влияния гельминта на иммунную систему хозяина. Впервые получены доказательства того, что Т-регуляторные клетки играют важную роль в механизмах воспаления при АР на фоне хронической описторхозной инвазии.

Практическая значимость. Полученные результаты распространенности АР могут быть использованы при планировании дальнейших эпидемиологических исследований, а именно, для определения динамики распространенности симптомов ринита у детей города и сельской местности Томской области. Кроме того, они являются теоретической основой планирования прямых и не прямых затрат здравоохранения по лечению и профилактике АР в педиатрической практике.

Выявленные особенности регуляции иммунного ответа при АР, протекающим на фоне описторхоза, могут быть полезны при разработке иммунокорректирующих препаратов, что повысит качество оказания профилактической помощи населению.

Результаты настоящей работы могут быть рекомендованы для включения в учебные программы дипломной и последипломной подготовки педиатров, детских аллергологов, иммунологов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Распространенность симптомов ринита у детей школьного возраста, проживающих в Томской области (городе и сельской местности), составила 28,87%. Наиболее высокие показатели симптомов текущего ринита зарегистрированы в сельских районах в сравнении с городом (31,03% vs 27,86%, $p < 0,05$). Максимальная распространенность симптомов ринита отмечена у девочек старшего возраста. Ключевыми факторами риска, ассоциированными с высокой распространенностью симптомов подобных аллергическому риниту, были: прием антибиотиков в первые 12 месяцев жизни ребенка, атопическая наследственность, пассивное курение. Частота легких симптомов АР преобладала у сельских школьников.
2. Распространенность аллергического ринита (симптомы ринита и положительные результаты кожного прик-теста и/или специфический $IgE > 0,35$ МЕ/мл) достоверно выше у детей города, чем сельской местности. Выраженность симптомов аллергического ринита характеризовалась сезонными подъемами с мая по сентябрь. Уровень сенсибилизации сопоставим у детей, больных аллергическим ринитом в сочетании с описторхозом и изолированным ринитом. Распространенность легких форм АР преобладала у детей с сочетанной патологией (аллергический ринит и хронический описторхоз).
3. Уровень Т-регуляторных клеток в периферической крови больных аллергическим ринитом, хроническим описторхозом и сочетанной патологией (аллергический ринит и хронический описторхоз) достоверно выше, чем у здоровых детей. Через 6 месяцев после дегельминтизации установлено снижение уровня $CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$, что свидетельствует об уменьшении супрессорного влияния гельминта на клеточный иммунный ответ.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на XVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 2009г.), на VII межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных педиатров «Здоровье детей – наше будущее!» (г. Томск, 2009г.), на XIII конгрессе педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» (г. Томск, 2009г.), на XI конгрессе с международным участием молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (г. Томск, 2010г.) на 78-ой Итоговой Научно-

практической конференции молодых ученых, посвященной 350-летию г. Иркутска (Иркутск, 2011г.), на проблемной комиссии по педиатрии, на совещаниях кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, 2011-2012 гг.).

Внедрение полученных результатов. Полученные результаты внедрены в работу отделения клинической иммунологии и аллергологии ОГБУЗ «Областная детская больница» (г. Томск). Материалы проведенных исследований используются в учебном процессе на кафедре факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) для студентов педиатрического, лечебного и медико-биологического факультетов и на кафедре клинической фармакологии с курсом аллергологии и клинической иммунологии Ханты-Мансийской государственной медицинской академии (г. Ханты-Мансийск).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе 3 полнотекстовые журнальные статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объём и структура диссертации. Работа изложена на 165 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 рисунками и 38 таблицами. Список источников цитируемой литературы включает 171 работ, из которых 46 отечественных и 125 зарубежных публикации.

Личный вклад автора. Автор лично формулировал задачи, в соответствии с которыми непосредственно выполнял данное исследование. Проведено анкетирование, объективный осмотр, сбор материала для исследования, участие в определении содержания Т - регуляторных клеток в периферической крови, статистический анализ и интерпретация результатов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с задачами, поставленными в работе, проведено 3 этапа исследования (рис. 1):

1. Скрининговый этап

Первый этап спланирован в дизайне сплошного одномоментного исследования в параллельных группах школьников г. Томска и сельской местности Томской области. В исследовании приняли участие дети в возрасте 7-8 (n=3709) и 13-14 (n=4602) лет, данные возрастные критерии приняты протоколом ISAAC в целях достижения сопоставимости результатов. Анкетный скрининг распространенности АР у детей проведено с использованием стандартизированных вопросников ISAAC, прошедших языковую адаптацию и валидизацию. После получения информированного согласия, учащиеся восьмых классов самостоятельно заполняли анкеты в школе во время урока,

родители/официальные опекуны первоклассников отвечали на вопросы анкеты дома или во время родительских собраний.

Респондентом, имеющим симптомы подобные АР, считали ребенка, в анкете ISAAC которой указан ответ «ДА» на вопрос 13 и 14 («Были ли у Вас / Вашего ребенка когда-либо чихание, насморк или заложенный нос, когда у Вас / Вашего ребенка не было простуды или ОРЗ?», «За последние 12 месяцев у Вас / Вашего ребенка были чихание, насморк или заложенный нос, когда у Вас / Вашего ребенка не было простуды или ОРЗ?»). Симптомы аллергического риноконъюнктивита (АРК) определяли по положительному ответу на вопрос 15: «За последние 12 месяцев сопровождалась ли чихание, насморк, заложенный нос зудом глаз и слезотечением?». Тяжесть болезни косвенно отражено в вопросе 17: «За прошедшие 12 месяцев как сильно чихание, насморк или заложенный нос мешали Вашей повседневной жизни /Вашего ребенка?»).

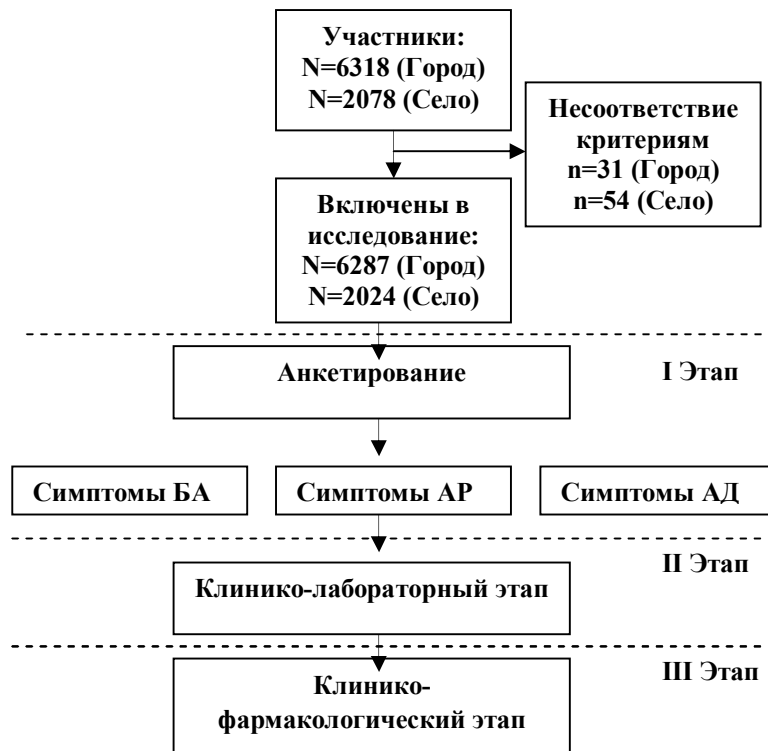


Рисунок 1. Схема исследования

Экологический вопросник предусматривал изучение ассоциаций распространенности симптомов аллергических болезней и факторов окружающей среды. Данная анкета включала вопросы о массе, росте ребенка при рождении, количестве и возрасте sibсов, контакте с домашними животными, воздействии табачного дыма, прием антибиотиков на первом году жизни ребенка.

2. Клинико-лабораторный этап

Данный этап выполнен в дизайне одномоментного исследования в ходе, которого проводили клиническое обследование, аллергологическую

диагностику (кожный прик-тест с наиболее распространенными аллергенами, определение уровня общего и специфических иммуноглобулинов E (IgE) в сыворотке крови методом ИФА), ПЦР-анализ стула на *O.felineus*, мазок-отпечаток со слизистой носа. Во второй этап исследования включены школьники, имевшие положительный ответ на вопросы 14 и 15 анкеты ISAAC.

3. Клинико-фармакологический этап

На данном этапе выполнено проспективное клинико-фармакологическое исследование «случай-контроль», спланированное с целью изучения роли описторхозной инвазии в модификации клеточного иммунного ответа у детей с АР. В исследование включены пациенты в возрасте 7-14 лет, госпитализированные в отделения гастроэнтерологии и аллергологии-клинической иммунологии ОГБУЗ «Областная детская больница» (г. Томск) по результатам II этапа исследования. Включение пациентов проводили после подписания родителями/опекунами информированного согласия.

Под наблюдением находились следующие группы пациентов:

1. Больные АР (n=15);
2. Больные хроническим описторхозом (n=15);
3. Больные АР в сочетании с хроническим описторхозом (n=15);
4. Контрольная группа – условно здоровые дети (n=15).

Критерии включения в группу больных АР:

- наличие диагноза АР (в соответствии с критериями ARIA, 2008г.);
- наличие подтвержденного ранее синдрома атопии (отягощенный семейный атопический анамнез, положительные результаты кожного аллерготестирования и/или уровень специфического IgE > 0,35 МЕ/мл);
- отсутствие на момент исследования гельминтных инфекций (трехкратная копроовоскопия – отрицательный результат, отсутствие клинических и лабораторных признаков любых других гельминтозов);
- отсутствие острых респираторных заболеваний в течение 4-х недель до визита.

Критерии включения в группу больных АР, сочетанным с хроническим описторхозом:

- наличие диагноза АР (в соответствии с критериями ARIA, 2008);
- наличие подтвержденного ранее синдрома атопии (отягощенный семейный атопический анамнез, положительные результаты кожного аллерготестирования и/или уровень специфического IgE > 0,35 МЕ/мл);
- отсутствие острых респираторных заболеваний в течение 4-х недель до визита;
- пациенты, не получающие лечение по поводу описторхоза;
- диагноз описторхозной инвазии подтвержден не позднее 3 мес., предшествующих исследованию: обнаружение яиц *O.felineus* в фекалиях или дуоденальном содержимом; наличие как минимум одного из перечисленных признаков (клинические проявления

холангиохолецистита, рецидивирующие эпизоды аллергических высыпаний, интоксикационный синдром, диспепсический синдром);

- отсутствие других гельминтных инвазий (лямблиоз, аскаридоз, энтеробиоз).

Критерии включения в группу больных хроническим описторхозом:

- Диагноз описторхозной инвазии подтвержден не позднее 3 мес., предшествующих исследованию (обнаружение яиц *O. felinus* в фекалиях или дуоденальном содержимом);
- Пациенты, не получающие лечение по поводу описторхоза;
- Отсутствие аллергических заболеваний в анамнезе.

Критерии включения в контрольную группу:

- Отсутствие описторхозной инвазии и других паразитарных инвазий в анамнезе и на момент включения;
- Отсутствие аллергических заболеваний на момент включения и в анамнезе.

Критерии исключения из всех групп:

- Наличие хронических заболеваний в стадии обострения, аутоиммунных заболеваний;
- Пациенты с признаками инфекции кожных покровов и других заболеваний кожи;
- Наличие других гельминтных инвазий, инфекционных заболеваний;
- Нежелание проводить дегельминтизацию (для больных описторхозом).

Методы, использованные при выполнении исследования

1. Эпидемиологические:

- планирование исследования: выбор дизайна и калькуляция численности выборок;
- выбор регионов для проведения исследования;
- информирование населения;
- использование скрининговых вопросников ISAAC.

2. Клинические:

- сбор медицинского анамнеза, жалоб; физикальное обследование, оценка жизненно важных функций и заполнение индивидуальной регистрационной карты врачом-исследователем;
- взятие венозной крови для последующего иммунологического исследования.

3. Аллергологические:

- выполнение кожных прик-тестов (КПТ) с аллергенами бытовой, пылевой и эпидермальной групп (ALK-Abelló, Испания).

4. Паразитологические:

- копроовоскопия по методу Като [Хамидуллин А.Р., 2005].

5. Морфологические:

- мазок отпечаток со слизистой носа по методу Л.А. Матвеевой [Матвеева Л.А., 1993].

6. Молекулярно-генетические:

- процедуру молекулярно-генетического тестирования с целью идентификации в биологическом материале яиц *Opisthorchis felinus* проводили в соответствии с протоколом, разработанным сотрудниками Сибирского государственного медицинского университета и Медицинского центра Лейденского Университета (Нидерланды).

7. Клинико-фармакологические:

- дегельминтизацию пациентов, страдающих описторхозной инвазией, проводили в условиях стационара ОГБУЗ «Областная детская больница» препаратом Бильтрицид (Bayer Schering Pharma AG, Германия) в дозе 40-60 мг/кг по схеме: 22.00 – ½ терапевтической дозы, 02.00 – ¼ и 06.00 – ¼ [Пальцев А.И., 2005]. По окончании проспективного периода (6 месяцев) проведено повторное обследование пациентов с оценкой динамики клинических и иммунологических показателей.

8. Иммунологические:

- определение уровня общего IgE в сыворотке крови методом ИФА («Вектор-Бест», Россия);
- исследование содержания $CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$ T - регуляторных клеток методом проточной цитофлуориметрии (FACSCalibur; Becton Dickinson, США).

Статистическая обработка полученных результатов

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ «Statistica for Windows 6.0». Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Для оценки различия средних в попарно не связанных выборках применяли U-критерий Манна-Уитни, в связанных – критерий Вилкоксона. Для сравнения частот качественных признаков использовался критерий хи-квадрат Пирсона, а в группах менее 5 человек – с поправкой Йетса на непрерывность. Для оценки вероятности развития события использован метод отношения шансов и относительного риска посредством программного продукта «Statcalc». Статистически значимыми различиями считали таковые при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Результаты скринингового этапа

В исследование включены 8311 детей (4121 мальчиков и 4190 девочек) в возрасте 7-8 и 13-14 лет, сформированы 2 выборки: городская ($n=6287$) и сельская ($n=2024$). По результатам анкетирования установлено, что распространенность симптомов АР «когда-либо» у школьников, проживающих на территории Томской области, составила 36,71%. Признаки текущего ринита отмечены у 28,87% детей. Сочетание аллергического воспаления верхних дыхательных путей и поражение слизистой глаз зарегистрировано у 9,64% респондентов. У детей г. Томска и области преобладала легкая форма АР 70,26%, среднетяжелая/тяжелая отмечена у 29,74% школьников ($p < 0,05$).

Диагноз «поллиноз, сезонный ринит, сенная лихорадка» установлен у 4,38% детей, что составляет 11,92% от выявленных случаев кумулятивного ринита.

Установлена корреляция распространенности симптомов ринита с гендерным признаком. Так симптомы АР, как в течение жизни, так и за последний год чаще отмечали девочки (38,23% и 35,20% соответственно для кумулятивного АР, $p < 0,05$; 30,51% и 27,23% соответственно для текущего ринита, $p < 0,05$). Школьники восьмых классов города и сельской местности в 1,7 раз чаще отмечали признаки кумулятивного (25,66% и 45,06%, $p < 0,05$) и в 1,5 раз текущего ринита (21,93% и 34,12%, $p < 0,05$), чем первоклассники.

Анализ распространенности симптомов АР в зависимости от места проживания показал преобладание кумулятивных (38,99% и 35,65%, $p < 0,05$) и текущих (31,03% и 27,86%, $p < 0,05$) симптомов у школьников сельской местности, чем у городских детей. Подобная тенденция сохраняется и при сравнении распространенности АРК (11,47% и 8,77% соответственно, $p < 0,05$). Однако, распространенность диагноза АР существенно не отличалась у жителей города и сельских районов Томской области (4,20% и 4,75%, $p = 0,30$). Установлена ассоциация симптомов АР в зависимости от времени года и места проживания. Так, городские дети чаще отмечали симптомы ринита с февраля по май месяцы, сельские - с августа по ноябрь (рис. 2).

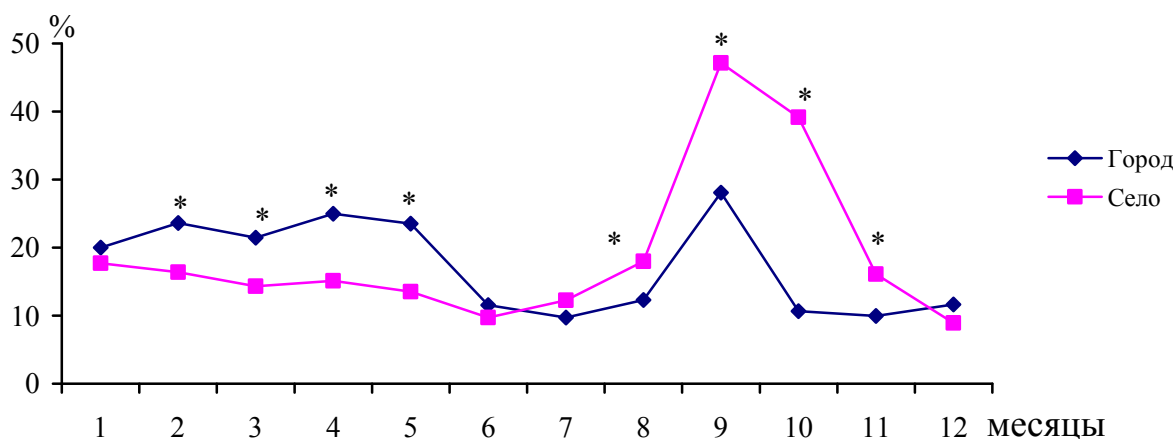


Рисунок 2. Сезонная распространенность текущих симптомов АР

Примечание: * $p < 0,05$ (критерий χ^2)

Факторы риска развития симптомов аллергического ринита

Изучение ассоциации факторов риска и распространенности АР проводили на основании результатов экологического вопросника ISAAC, которые заполняли родители/опекуны.

Установлены основные анамнестические факторы риска у детей Томской области с симптомами АР, такие как прием антибиотиков в первые 12 месяцев жизни ребенка, курение родителей в доме, наличие аллергических заболеваний у близких родственников (OR 1,94; CI95% 1,52-2,49) (табл. 1). В городе установлен фактор наличия естественного вскармливания (OR 2,45; CI95% 1,11-5,56, $p = 0,01$).

Таблица 1

Факторы риска симптомов аллергического ринита у детей города и сельской местности Томской области

Факторы риска	%	OR	CI	p*
Парацетамол в первые 12 мес. жизни	64,52	0,84	0,21-3,31	0,77
Антибиотики в первые 12 мес. жизни	62,8	1,54	1,20-1,96	0,01
Грудное вскармливание	91,88	1,15	0,74-1,79	0,50
Кошка в течение первого года жизни	34,98	0,95	0,74-1,21	0,64
Собака в течение первого года жизни	34,57	0,88	0,69-1,13	0,31
Кошка за последние 12 мес.	65,12	1,06	0,84-1,34	0,62
Собака за последние 12 мес.	52,82	1,19	0,83-1,71	0,33
Атопические болезни у матери	36,23	1,91	1,45-2,51	0,01
Атопические болезни у отца	14,73	1,64	1,11-2,41	0,01
Курение в доме	60,64	1,28	1,02-1,60	0,02

Примечание: *p<0,05

Протективная роль в отношении развития симптомов ринита в популяции определена для таких факторов, как отопление дома газом/керосином (OR 0,40; CI95% 0,15-1,07, p=0,03). В сельской местности защитными факторами стали присутствие кошки в доме в раннем возрасте ребенка (OR 0,72; CI95% 0,51-1,00, p=0,05), контакт с животными (такими как крупнорогатый скот, свиньи, козы, овцы и домашняя птица) (OR 0,64; CI95% 0,45-0,91, p=0,01).

2. Результаты клинико-лабораторного этапа

После последнего пересмотра номенклатуры аллергических болезней (ЕААСI, 2010г.) принята новая классификация АР, которая базируется на механизме развития реакции. Ринит принято классифицировать, как аллергический и неаллергический. Данная классификация основана на результатах КПТ и/или специфических IgE в сыворотке крови.

На основании критериев, включающих симптомы ринита за последние 12 месяцев (вопрос 14 анкеты ISAAC) и наличия позитивного результата КПТ (размер папулы ≥ 1 мм) установлено, что распространенность АР выше в городской популяции – 18,95%, чем в сельской – 12,78% (p<0,05).

Распространенность неаллергического ринита (НАР) устанавливали при наличии положительного ответа на вопрос 14 анкеты ISAAC и отсутствия сенсibilизации по результатам КПТ. Таким образом, симптомы НАР реже отмечали городские дети (21,93%), чем сельские – 32,24% (OR 0,59; CI95% 0,46-0,70, p<0,05).

При сравнении распространенности АР и НАР у школьников города не установлено достоверной разницы (p=0,21), при этом в сельской местности чаще регистрировали НАР, чем АР (p=0,01).

Распространенность АР у детей 7-8 лет составила 51,45%, в группе 13-14летних пациент - 24,86% (OR 3,20; CI95% 1,98-5,19, $p < 0,01$). Симптомы НАР встречались одинаково часто у детей младшей и старшей групп (42,42% и 40,62%, соответственно, $p = 0,61$). Следует отметить, что симптомы АР характерны для детей младшего возраста (OR 1,44; CI95% 0,99-2,09, $p = 0,04$), а НАР - старшего (OR 2,07; CI95% 1,36-3,15, $p < 0,01$).

Симптомы НАР чаще регистрировали в холодное время года, тогда как АР в весенне-летний период (рис. 3).

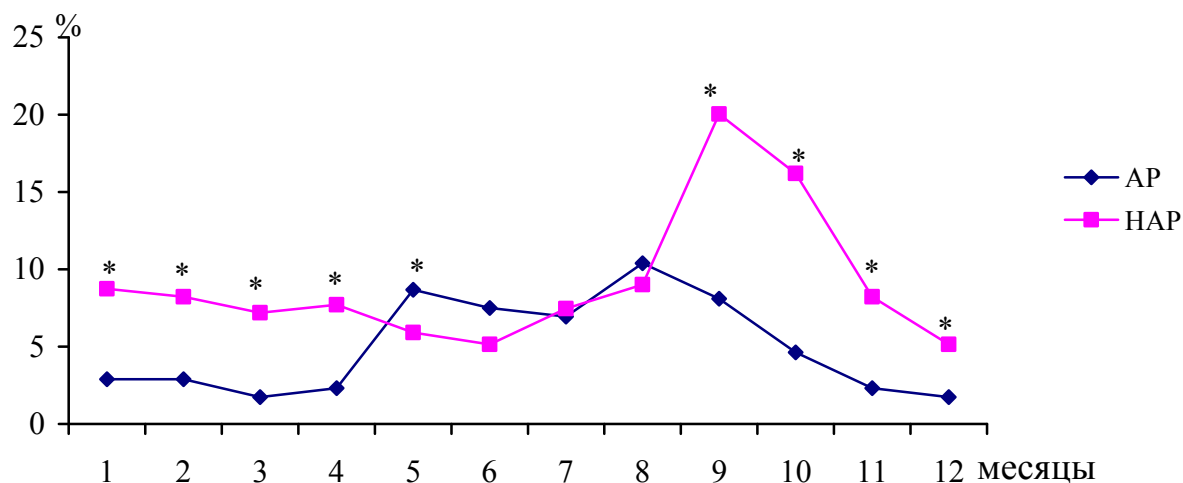


Рис. 3. Распространенность ринита в течение года

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении симптомов АР и НАР (критерий χ^2)

Для изучения вклада *O. felineus* в формирование АР были сформированы две группы:

- 1 группа - больные с изолированными симптомами аллергического ринита ($n = 242$);
- 2 группа - больные с сочетанной патологией: аллергический ринит и хронический описторхоз ($n = 137$).

В группу с изолированными симптомами АР включены дети, проживающие в г. Томске и сельской местности ТО имеющие положительный ответ на 14 вопрос анкеты ISAAC при наличии сенсibilизации (положительные результаты КПТ и/или $sIgE \geq 0,35$ МЕ/мл) и отрицательный результат ПЦР-анализа стула на *O. felineus*.

Дети с сочетанной патологией (АР и хронический описторхоз) употребляли в пищу речную рыбу домашнего приготовления, а также имели положительный ответ на 14 вопрос анкеты ISAAC при наличии сенсibilизации (положительные результаты КПТ и/или $sIgE \geq 0,35$ МЕ/мл) и позитивный результат ПЦР-анализа на *O. felineus*. Анализ медицинской документации подтверждал наличие у данных пациентов описторхозной инвазии, выявленной методом копроовоскопии и/или дуоденального зондирования. Лечения по поводу данного заболевания пациенты не получали.

Сравнительная характеристика клинико-лабораторных показателей

Исследуемые параметры	АР	АР+ОПИ	p*
Интермиттирующий АР (%)	62,82	71,43	0,01
Персистирующий АР (%)	37,18	28,57	0,01
Легкой степени АР	51,57	69,41	0,01
Среднетяжелый/ Тяжелый АР	34,13	25,36	0,01
Общий IgE (МЕ/мл)	155,09±20,67	210,59±29,28	0,01
Эозинофилы назал.(%) [#]	3,65±2,63	0,95±0,30	0,01

Примечание: [#] эозинофилы в мазках-отпечатках со слизистой носа; *p (критерий Манна-Уитни); ОПИ – хронический описторхоз

Стратификация по степени тяжести выявила, что легкое течение АР чаще зарегистрировано в выборке с сочетанной патологией, чем при изолированном рините (табл. 2). Уровень общего IgE достоверно выше был у детей с АР в сочетании с хроническим описторхозом, при этом отмечено повышенное содержание эозинофилов в ринопанграмме у больных с изолированным ринитом.

Структура сенсибилизации в зависимости от класса аллергенов была сопоставима у больных АР и ринитом в сочетании с описторхозом. Следует отметить, что моновалентная сенсибилизация встречалась одинаково часто в обеих группах (OR 0,34; CI95% 0,07-1,50, p=0,37).

3. Результаты клинико-фармакологического этапа

С целью исследования особенностей клеточного иммунитета у детей, страдающих АР на фоне хронической описторхозной инвазии, проведена оценка клинического статуса и содержания Трег в культуре мононуклеарных клеток периферической крови.

Сравнительный анализ степени тяжести клинических симптомов ринита, показал преобладание легкой формы АР при сочетанной патологии (33,34% и 6,66%, p<0,01). Число больных со среднетяжелым/тяжелым течением болезни выше среди пациентов с изолированным АР (40,00% и 6,66%, p<0,01). В группах больных АР и сочетанной патологией достоверных различий эозинофильного воспаления выявлено не было. У больных изолированным ринитом достоверно чаще встречалась сенсибилизация к миксту трав, пыльце березы и полыни (p<0,05).

Анализ показателей клеточного иммунитета показал, что среднее содержание CD4⁺CD25^{high} у больных АР составило 1,79±0,44%, описторхозом – 2,57±0,37% и сочетанной патологией - 2,93±0,53%, что достоверно выше, чем в группе условно здоровых детей - 0,87±0,15% (p<0,05 при сравнении всех групп с контролем).

Уровень субпопуляции CD4⁺FoxP3⁺ клеток у пациентов с ринитом также выше по сравнению со здоровыми детьми (7,10±0,73 и 0,81±0,43% соответственно, p<0,05). В группе больных с сочетанной патологией (7,63±0,77%) и хроническим описторхозом (6,66±0,62%) отмечен высокий уровень CD4⁺FoxP3⁺ по сравнению с контрольной выборкой.

Проведенный корреляционный анализ показал прямую зависимость между содержанием CD4⁺FoxP3⁺ и CD4⁺CD25^{high} (r=0,37, p=0,01). Данный факт подтверждает, что наличие FoxP3⁺ сопряжено с высоким уровнем экспрессии CD4⁺CD25^{high} клеток.

В рамках работы проведена оценка содержания Treg клеток после дегельминтизации в группе больных, у которых при контрольном обследовании через 6 месяцев отсутствует инвазия *O.felineus*.

Анализ полученных данных после проведения антигельминтной терапии показал динамику изменения уровня Treg клеток в периферической крови. Так, у больных описторхозом и сочетанной патологией (АР и хронический описторхоз) наблюдается достоверное снижение уровня CD4⁺CD25^{high}, чем до лечения (табл. 3). Данный показатель был сопоставим с контрольным значением (0,98±0,44 и 0,87±0,15, 1,56±0,32 и 0,87±0,15, p>0,05).

Таблица 3

Субпопуляционный состав CD4⁺CD25^{high} до и после дегельминтизации

Группы	Популяция клеток CD4 ⁺ CD25 ^{high} , %	
	До лечения	После лечения
АР+ОПИ	2,93±0,53	0,98±0,44*
ОПИ	2,57±0,37	1,56±0,32*

Примечание: *p<0,05 - в сравнении с показателями до и после лечения (критерий Вилкоксона)

Таблица 4

Субпопуляционный состав CD4⁺FOXP3⁺ до и после дегельминтизации

Группы	Популяция клеток CD4 ⁺ FoxP3 ⁺ , %	
	До лечения	После лечения
АР+ ОПИ	7,63±0,77	3,42±0,48*
ОПИ	6,66±0,62	2,08±2,67*

Примечание: *p<0,05 - в сравнении с показателями до и после лечения (критерий Вилкоксона)

Схожая тенденция содержания CD4⁺FoxP3⁺ получена после лечения паразитарной инвазии у больных, как с изолированным хроническим описторхозом, так и в сочетании с ринитом, отмечено достоверное снижение T-клеток (табл. 4). Можно предположить, что подобная динамика показателей связана с прекращением постоянного антигенного влияния гельминта на иммунную систему хозяина.

Таким образом, проведенное исследование показало, что хроническая инвазия *O.felineus* вызывает модификацию клеточного иммунного ответа при АР у детей посредством повышения уровня $CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$. Также следует отметить, что лечение хронического описторхоза на фоне ринита привело к прогрессированию клинических симптомов АР, что отразилось и на повседневной активности больных. Дети практически в два раза чаще стали отмечать нарушение сна ($3,88\pm 0,31$ и $6,54\pm 0,84$, $p<0,05$), нарушение занятий спортом ($3,50\pm 0,25$ и $5,42\pm 0,87$, $p<0,05$). Вместе с этим отмечалось повышение активности показателей, характеризующих степень аллергического воспаления, таких как общий IgE ($147,75\pm 46,65$ МЕ/мл и $215,02\pm 70,13$ МЕ/мл, $p<0,05$) и эозинофилы назального секрета ($2,00\pm 1,21\%$ и $5,27\pm 0,64\%$, $p=0,01$).

Концепция работы

Концепция настоящего исследования предполагает, что при АР, протекающем на фоне хронической описторхозной инвазии, экскреторно-секреторные протеины *Opisthorchis felineus* стимулируют выработку Treg клеток ($CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$), которые, в свою очередь, приводят к супрессии Th-2 иммунного ответа, и как следствие, подавлению аллергического воспаления в верхних дыхательных путях (рис. 4).

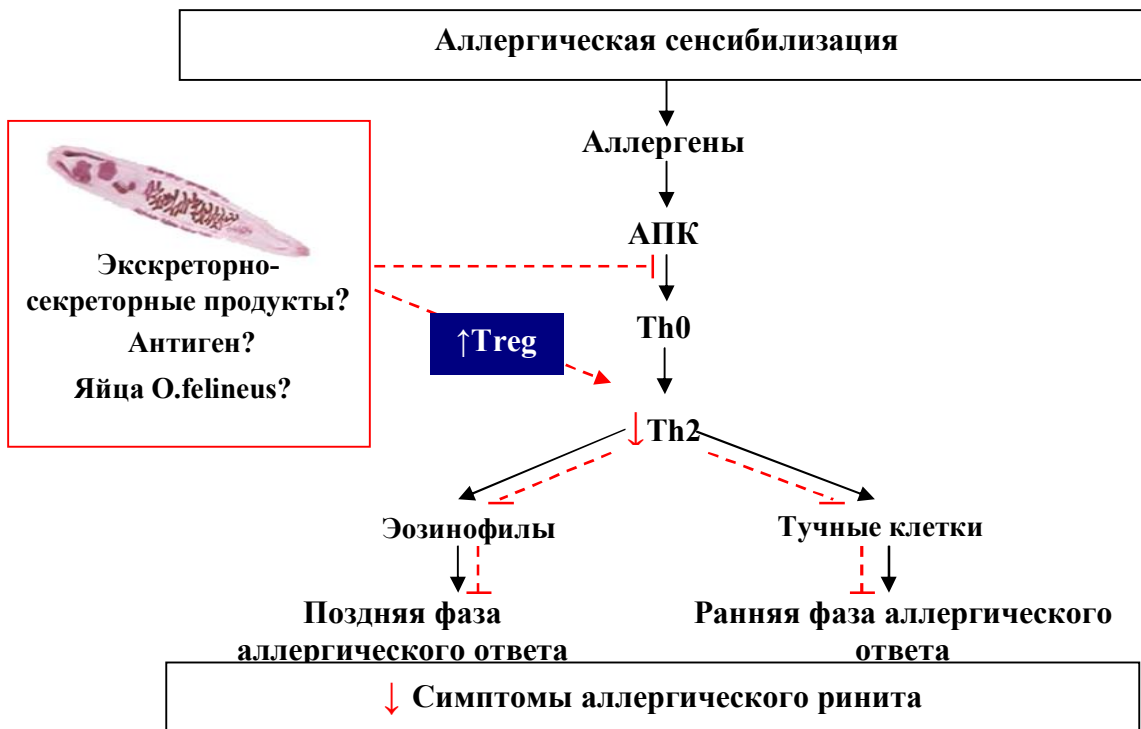


Рис. 4. Гипотетическая схема регуляции иммунного ответа АР, протекающего на фоне хронической описторхозной инвазии

ВЫВОДЫ

1. Распространенность симптомов ринита значительно различается в г. Томске и сельских районах Томской области. Преобладание накопленных ($38,99\%$ и $35,65\%$, город и село соответственно, $p<0,05$) и текущих

- симптомов ринита (31,03% и 27,86%, город и село соответственно, $p < 0,05$) характерно для школьников сельской местности. Симптомы подобные АР чаще отмечены в группе подростков (34,12% и 21,93% в сравнении с первоклассниками, $p < 0,05$), причем в большей степени у девушек - 37,00% в сравнении с юношами - 31,01%, $p < 0,05$.
2. Распространенность аллергического ринита (симптомы ринита и положительные результаты кожного прик-теста и/или специфический $IgE > 0,35$ МЕ/мл) выше в городской популяции, в сравнении с сельской (18,95% и 12,78%, $p < 0,05$). Неаллергический ринит преобладал у детей, проживающих в районах Томской области (32,24% и 21,93%, $p < 0,05$). У городских школьников с АР распространенность сенсibilизации выше, чем у детей, проживающих в сельских районах (40,63% и 25,68%, $p < 0,05$). В городе превалировала сенсibilизация к аллергенам шерсти кошки, пыльцы березы, полыни, лебеде, амброзии и таракану, в сельской местности – к клещу домашней пыли.
 3. Факторами риска, ассоциированными с большей частотой симптомов АР у детей г.Томска и сельской местности Томской области являются прием антибиотиков в первые 12 месяцев жизни ребенка, наличие аллергической патологии у родителей, пассивное курение.
 4. Аллергический ринит, протекающий на фоне хронической описторхозной инвазии, характеризуется более легким течением, в сравнении с изолированным АР (71,43% и 62,82% соответственно, $p < 0,05$), снижением эозинофилов в назальном секрете ($3,65 \pm 2,63$ и $0,95 \pm 0,30\%$, $p < 0,05$).
 5. Уровень субпопуляции $CD4^+CD25^{high}$ клеток выше у детей, имеющих сочетанную патологию, в сравнении с больными с изолированным ринитом ($2,93 \pm 0,53$ и $1,79 \pm 0,44$ соответственно, $p < 0,05$). Дегельминтизация *Opisthorchis felinus* (через 6 месяцев после проведения) сопряжена со снижением уровня $CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$ клеток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные распространенности АР рекомендуется использовать при планировании дальнейших эпидемиологических исследований, а именно, для определения динамики распространенности симптомов ринита у детей города и сельской местности Томской области.
2. Результаты исследования могут быть использованы для создания теоретической основы планирования прямых и непрямых затрат здравоохранения по лечению и профилактике АР в педиатрической практике.
3. Выявленные особенности регуляции иммунного ответа при аллергии верхних дыхательных путей на фоне описторхоза полезны при разработке превентивных препаратов, что повысит качество оказания профилактической помощи населению.

ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Белоногова, Е.Г. Распространенность астмы и аллергии у школьников г.Томска [Текст] / Белоногова Е.Г., Вишеникина О.Н. // Сборник Материалы всероссийской 65-й итоговой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова, Томск. – 2005. - С. 36-37.
2. Белоногова, Е.Г. Эпидемиология аллергических ринитов у школьников г. Томска и сельской местности Томской области [Текст] / Камалтынова Е.М., Белоногова Е.Г., Деев И.А. // Сборник материалов XIII Конгресса педиатров России «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» / Союз педиатров России. – Томск, 2009. - С. 12.
3. Белоногова, Е.Г. Распространенность симптомов аллергического ринита у детей г. Томска и сельской местности Томской области [Текст] / Белоногова Е.Г., Камалтынова Е.М.// Сборник Трудов X Международного Конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». – Казань, 2009. - С. 481-482.
4. Белоногова, Е.Г. Распространенность симптомов аллергического ринита у детей г. Томска и сельской местности Томской области [Текст] / Белоногова Е.Г., Камалтынова Е.М. // Сборник научных трудов по итогам VII межрегиональной научно-практической конференции студентов, интернов, ординаторов и молодых ученых-педиатров, Томск. - 2009. - С.9-11.
5. **Уровень оксида азота в популяционном исследовании астмы и аллергии у детей школьного возраста [Текст] / Камалтынова Е.М., Огородова Л.М., Деев И.А., Белоногова Е.Г., Екимовских А.В. // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2010. - Т.2. - №2. - С. 26-32.**
6. Белоногова, Е.Г. Распространенность симптомов аллергического ринита у школьников Томской области [Текст] / Белоногова, Е.Г. // Сборник статей по материалам XI конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», Томск. - 2010. – С. 18.
7. Белоногова, Е.Г. Распространенность симптомов астмы у школьников с аллергическим ринитом [Текст] / Камалтынова Е.М., Деев И.А., Белоногова Е.Г. // Сборник научных трудов конференции посвященной 50-ти летнему юбилею кафедры педиатрии МГМСУ. Москва, 2010. - С.159-160.
8. Белоногова, Е.Г. Распространенность и структура сенсibilизации у детей с аллергическим ринитом [Текст] / Камалтынова Е.М., Белоногова Е.Г., Деев И.А., Елисеева О.В. // Российская ринология, Москва - 2010. –№3. - С. 8.
9. **Эпидемиология аллергического ринита у детей г. Томска и сельской местности Томской области [Текст] / Огородова Л.М., Камалтынова Е.М., Деев И.А., Белоногова Е.Г., Солодовникова О.В., Гонсорунова Д.С. // Вестник оториноларингологии. – 2010. - №3. - С. 19-23.**
10. Распространенность аллергических болезней (астмы, ринита, дерматита) и сенсibilизации у школьников, проживающих в городе и сельской местности [Текст] / Камалтынова Е.М., Белоногова Е.Г., Гонсорунова Д.С. и др. // Сборник материалов 14-й межрегиональной научно-практической конференции с

международным участием «Актуальные проблемы медицины», Абакан. - 2011. – С.42-46.

11. Belonogova, E. The prevalence of allergy disease in Tomsk oblast [Текст] / Belonogova, E., Kamaltinova E. // «Вопросы экспериментальной и клинической медицины» Материалы 78-ой межрегиональной научно-практической студенческой конференции, посвященной 350-летию г. Иркутска. Иркутск. – 2011. - С.109.

12. Белоногова, Е.Г. Распространенность структуры сенсibilизации у детей с симптомами ринита в г.Томске и Томской области [Текст] / Белоногова Е.Г., Гонсорунова Д.С. // «Вопросы экспериментальной и клинической медицины» Материалы 78-ой межрегиональной научно-практической студенческой конференции, посвященной 350-летию г. Иркутска. Иркутск. – 2011. - С.231-232.

13. Белоногова, Е.Г. Клинико-эпидемиологическая характеристика ринита у школьников Томской области [Текст] / Белоногова Е.Г., Гонсорунова Д.С. // Медицина XXI века: сборник материалов юбилейной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВа в Кузбассе. Новокузнецк. – 2011. - С.139-140.

14. Исследование содержания $CD4^+CD25^{high}$ и $CD4^+FoxP3^+$ регуляторных клеток у детей, страдающих аллергическими заболеваниями в сочетании с описторхозной инвазией [Текст] / Гонсорунова Д.С., Елисеева О.В., Белоногова Е.Г. // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 35-летнему юбилею НИИ Медицинских проблем Севера СО РАМН и 30-летнему юбилею НИИ Клинической иммунологии СО РАМН. Абакан. - 2011. - С. 234-236.

15. Белоногова, Е.Г. Распространенность маркеров атопической сенсibilизации у школьников с симптомами астмы, ринита и дерматита [Текст] / Белоногова Е.Г., Гонсорунова Д.С., Елисеева О.В. // Материалы 65-ой Итоговой научной конференции молодых ученых РостГМУ с международным участием. - Ростов-на-Дону, 2011. – С.48.

16. Белоногова, Е.Г. Вклад аллергического и неаллергического ринита в развитие симптомов астмы у детей томской области [Текст] / Белоногова Е.Г., Камалтынова Е.М., Деев И.А., Коломеец И.Л. // Сборник материалов XVI Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» Союз педиатров России. – Москва, 2012. - С. 72.

17. Распространенность симптомов ринита и особенности сенсibilизации у детей Томска и Томской области [Текст] / Камалтынова Е.М., Белоногова Е.Г., Деев И.А., Огородова Л.М. // Мать и Дитя в Кузбассе. - 2012. - №1. – С. 38-42.

Условные сокращения

АБ – аллергические болезни

АР – аллергический ринит

АРК - аллергический риноконъюнктивит

ИФА – иммуноферментный анализ

КПТ – кожный прик-тест

НАР – неаллергический ринит

ОПИ - описторхоз

ПЦР - полимеразная цепная реакция

CD4⁺CD25^{high} - естественные Т-регуляторные клетки с высокой экспрессией CD25

CI - confidence interval

FoxP3⁺ – forkhead box P3, транскрипционный фактор

IgE – иммуноглобулин класса E

ISAAC - International Study of Asthma and Allergy in Childhood

OR - odds ratio

Th - Т-хелпер

Treg – Т – регуляторные клетки

Выражаю благодарность д-ру мед. наук, профессору, член-корреспонденту РАМН Огородовой Людмиле Михайловне за участие в научной дискуссии по результатам проведенного исследования.

Подписано в печать 28 апреля 2012г. Усл. печ. листов 0,6 Печать на ризографе.

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 53-04-08

Заказ №108

Тираж 100 экземпляров

