

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Е. И. Шишацкая
подпись инициалы, фамилия

«_____» _____ 2020 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у детей
с аденоидными вегетациями
тема

06.04.01 Биология
код и наименование направления

06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия
код и наименование магистерской программы

Научный руководитель	_____	<u>доцент, к.б.н.</u>	<u>Ю.С.Акопова</u>
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия
Выпускник	_____		<u>К.Р.Жуланова</u>
	подпись, дата		инициалы, фамилия
Рецензент	_____	<u>доцент, к.м.н.</u>	<u>Н.Ю.Гришкевич</u>
	подпись, дата	должность, ученая степень	инициалы, фамилия

Красноярск 2020

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация выполнена по теме «Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у детей с аденоидными вегетациями» содержит 67 страниц текстового документа, 17 иллюстраций, 10 таблиц, 1 расчётную формулу, 3 приложения, 58 использованных источников.

ЛИМФОЦИТЫ, НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫЕ ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ, ГИПЕРТРОФИЯ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ, АДЕНОИДНЫЕ ВЕГЕТАЦИИ, МЕТАБОЛИЗМ.

Объект исследования: лимфоциты, выделенные из периферической крови детей трех возрастных групп с диагнозом аденоидные вегетации II и III степени.

Цель исследования: изучение особенностей метаболизма лимфоцитов периферической крови у детей с аденоидными вегетациями.

Задачи:

- изучение функционального состояния лимфоцитов у детей с аденоидными вегетациями II и III степени;
- проведение сравнительного анализа уровней активности оксидоредуктаз лимфоцитов периферической крови больных из разных возрастных групп при аденоидных вегетациях;
- изучение изменения уровней НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у детей в зависимости от степени гипертрофии глоточных миндалин.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали некоторые изменения в ферментном составе лимфоцитов периферической крови в группах детей с аденоидными вегетациями II и III степеней.

Установлено, что у пациентов с аденоидными вегетациями наблюдается снижение интенсивности аэробных процессов, снижение активности реакций окислительного дезаминирования глутамата, снижение глутатион-зависимой антиоксидантной защиты в клетках.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	7
1 Обзор литературы	7
1.1 Этиологические факторы возникновения аденоидов	7
1.2 Особенности патогенеза аденоидных вегетаций	11
1.3 Клинические проявления аденоидной гипертрофии	13
1.4 Современные принципы лечения.....	15
1.5 Ассоциация генетических полиморфизмов с гипертрофией аденоидных вегетаций.....	16
1.6 Метаболизм и функциональная активность лимфоцитов	18
1.7 Роль исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в организме человека.....	20
2 Материалы и методы	23
2.1 Объект исследования	24
2.2 Выделение лимфоцитов крови	24
2.3 Билюминисцентный метод определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ.....	25
2.4 Статистический анализ данных	28
3 Результаты и обсуждение.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.1 Особенности метаболических показателей у детей с ГГМ II стадии	Ошибка! Закладка не определена.
3.2 Особенности метаболических показателей у детей с ГГМ III стадии	Ошибка! Закладка не определена.
3.3 Метаболизм лимфоцитов периферической крови детей в зависимости от стадии ГГМ.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.4 Корреляционные связи показателей активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	30
ПРИЛОЖЕНИЕ А-В	Ошибка! Закладка не определена.
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	4

ВВЕДЕНИЕ

По данным ведущих педиатрических клиник, заболевания органов лимфаденоидного глоточного кольца Вальдейера занимают первое место среди других ЛОР-патологий у детей. Эпидемиологические исследования, проведенные Г. Буговой с соавт. [1] показали, что гипертрофия глоточной миндалины, также называемая аденоидной гипертрофией или аденоидной вегетацией (АВ), выявляется примерно у одной трети общей педиатрической популяции с максимальным появлением у детей дошкольного возраста (60%) и является наиболее частым оториноларингологическим показанием к хирургическому вмешательству. По данным исследований, проведенных Н. В. Терсковой с соавт. (2013 год) в г. Красноярске, выявлено, что гипертрофия глоточной миндалины у детей является одной из самых распространенных патологий среди всех заболеваний верхних дыхательных путей [2].

Аденоидные вегетации (разрастания) определяют как реактивную гиперплазию глоточной миндалины в ответ на воздействие антигенов [3]. Распространенность аденоидных разрастаний характерна для детей в возрасте 3-4 лет.

Лимфоглоточное кольцо и аденоидные вегетации, а так же хронические воспалительные процессы занимают одну из главных ролей в формировании хронических очагов инфекции в носоглотке [4].

В последние годы у детей все чаще отмечается тенденция к увеличению встречаемости аденоидных вегетаций, что является одной из причин повышения числа оперативных вмешательств. До сих пор нет однозначного мнения врачей о том, какой из методов лечения является вариантом выбора, консервативный или хирургический [5].

Необходимо отметить важную роль метаболических процессов в клетках иммунной системы для обеспечения гомеостаза организма. Доказано, что метаболическое состояние иммунной клетки может напрямую влиять на ее

способность функционировать и дифференцироваться, что в конечном итоге влияет на иммунитет [6]. Также известно, что от первоначального уровня внутриклеточного метаболизма, характеризующегося соотношением катаболических и анаболических процессов, зависит функциональная активность лимфоцитов [7].

Метаболические процессы играют непосредственную роль в регуляции защитных иммунных функций клеток. Специфические метаболические изменения в иммунокомпетентных клетках могут служить объяснением дисфункции иммунных реакций, наблюдаемых при длительных воспалительных заболеваниях носоглотки.

Гипертрофия глоточных миндалин приводит к изменению метаболизма в иммунокомпетентных клетках. НАД- и НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы лимфоцитов являются ключевыми на разных этапах метаболических путей и относятся к наиболее информативным показателям обмена веществ. Исходя из этого, анализ данных оксидоредуктаз позволяет не только оценить уровни активности отдельных ферментов, но и определить интенсивность метаболических путей или циклов, а также реактивность метаболических процессов в целом.

Актуальность данного исследования определена потребностью изучения метаболических процессов в лимфоцитах крови у детей. Дети представляют собой молодые организмы, обладающие высокой скоростью роста и быстротой развития. Ввиду этого, у детей на клеточном уровне достаточно динамично протекают не только метаболические процессы, которые связаны с ростом и развитием организма, но и обменные нарушения, являющиеся результатом влияния патологических факторов.

В связи с вышесказанным, **целью** данной работы явилось изучение особенностей метаболизма лимфоцитов периферической крови у детей с аденоидными вегетациями.

Исходя из цели, сформулированы следующие **задачи**:

1. По активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ изучить функциональное состояние лимфоцитов у детей с аденоидными вегетациями II и III степени.

2. Провести сравнительный анализ уровней активности оксидоредуктаз лимфоцитов периферической крови больных из разных возрастных групп при аденоидных вегетациях.

3. Изучить изменения уровней НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у детей в зависимости от степени гипертрофии глоточных миндалин.

Отбор больных детей и забор крови проводился врачом-отоларингологом – Ольгой Юрьевной Сидоровой на базе отоларингологического отделения Научно-исследовательского института медицинских проблем севера СО РАМН и Красноярской межрайонной детской больницы №4 (КМБД №4). Обработку отобранного материала и биолюминисцентное измерение активности изучаемых ферментов в лимфоцитах осуществляла Ксения Романовна Жуланова на базе молекулярно-клеточной лаборатории ФГБУ «НИИ медицинских проблем севера» СО РАМН (руководитель лаборатории – профессор, д.м.н. Андрей Анатольевич Савченко).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 Обзор литературы

1.1 Этиологические факторы возникновения аденоидов

Аденоидные вегетации представляют собой реактивно измененную глоточную миндалину в виде гиперплазии её лимфоидной ткани. Эта миндалина вместе с язычной и небными миндалинами входит в состав лимфаденоидного глоточного кольца. Гистологическая структура гиперплазированной глоточной миндалины, как лимфоэпителиального органа отражает взаимодействие иммунокомпетентных клеток с эпителием органа в форме лимфоэпителиального симбиоза и присутствия интраэпителиальных лимфоцитов в пласте респираторного эпителия. Выявленное при иммуногистохимическом исследовании распределение основных популяций Т- и В-лимфоцитов в диффузной и фолликулярной лимфоидной ткани аденоидов подтверждает существующее выделение функциональных компартментов и отражает кооперативный иммунный ответ с участием гуморального и клеточного звеньев иммунитета [8].

Глоточная миндалина морфологически представляет собой рыхлую аденоидную ткань, в паренхиме которой присутствуют лимфоциты, нейтрофилы, тканевые макрофаги, гистиоциты и плазмоциты. Поверхность миндалины выстлана многослойным мерцательным цилиндрическим эпителием. Респираторный эпителий с поверхности миндалины синтезирует вещества, отвечающие за защиту от патогенных вирусов. К таким веществам относят интерфероны и лактоферрин. Т-лимфоциты синтезируют интерлейкины, В-лимфоциты, контактирующие с антигенами стафилококков, трансформируются в плазмоциты и далее начинают выработку Ig A, M, G. Лимфоциты глоточной миндалины способны к миграции в слизистую оболочку носа.

Известно, что морфологическим эквивалентом иммунного ответа является гиперплазия лимфоидной ткани с образованием вторичных лимфатических

фолликулов, в герминативных центрах которых осуществляется клональная пролиферация В-клеток.

Разрастание глоточной миндалины и частые респираторные заболевания дыхательных путей негативно сказываются на развитии организма ребенка, способствуют появлению хронических заболеваний, в частности аденоидитов, являются ведущим звеном нарушения формирования морфофункциональной организации иммунной системы.

Расположение глоточной миндалины на задней стенке позволяет ей занимать доминирующее положение в лимфоидном кольце. Она подвержена воспалительным и другим заболеваниям, нередко сопровождающимся гипертрофией лимфоидной ткани.

АВ имеют большое значение в патологии верхних дыхательных путей и органа слуха. Наличие аденоидных разрастаний вызывает не только местные расстройства в виде затруднения носового дыхания, нарушения слуха, изменения голоса, но часто неблагоприятно отражаются на общем состоянии организма, рефлекторно вызывая ряд нарушений в соседних и отдаленных органах (нарушение кровообращения в полости черепа, ночное недержание мочи).

Аденоидные вегетации наблюдаются с одинаковой частотой у девочек и мальчиков. Разрастания глоточной миндалины могут появляться как в возрасте от 3 до 7-10 лет, так и в первые годы жизни, а также после периода полового созревания. Глоточная миндалина хорошо развита только в детском возрасте, приблизительно с 12 лет она уменьшается в размерах и к 20-25 годам обычно сохраняются лишь небольшие остатки аденоидной ткани, а у взрослых наступает ее полная атрофия [8]. Лишь в редких случаях у взрослых может встречаться гипертрофия глоточных миндалин. Среди взрослых аденоидные вегетации чаще отмечают у лиц женского пола возраста 16-20 лет, имеющих эндокринные проблемы. Консервативные методы лечения рассматривают исключительно после хирургического вмешательства [9].

Гипертрофированная глоточная миндалина сохраняет свое строение. Морфологически аденоиды представляют собой опухолеподобные массы бледно-розового цвета, располагающиеся на широком основании в области купола носоглотки. Кроме основной массы аденоидов, исходящих из глоточной миндалины, большое значение имеют боковые образования, возникающие в результате гипертрофии фолликулярного аппарата слизистой оболочки. Консистенция аденоидов у детей вначале обычно рыхлая. С возрастом и в результате повторных воспалений начинается атрофия лимфоидной ткани и соответственно наступает разрастание соединительной ткани, аденоиды при этом постепенно становятся более плотными и уменьшаются в объеме.

Размеры аденоидных разрастаний условно разделяют по степени прикрытия ими сошника и хоан. АВ I степени - прикрывают верхнюю часть сошника; при II степени аденоиды прикрывают верхние две трети сошника; при III степени аденоидные разрастания прикрывают полностью или почти полностью сошник [8]. В отсутствии патологии размеры миндалины составляют: толщина 5-7 мм, ширина 20 мм, длина 25 мм.

Этиология патологических изменений в миндалинах не до конца определена. В настоящее время ведется поиск триггерных факторов, приводящих к гипертрофии глоточных миндалин, а также возможных наследственных генетических аномалий. Поскольку сейчас не определено единое мнение о причине, которая вызывает патологические изменения в лимфаглоточном кольце. Разрастание лимфаденоидной ткани воспринимают как компенсаторную реакцию организма на заражение микробными агентами и вирусными частицами, связывают с аллергическими реакциями в слизистой оболочке глотки (Козлов В.С., Магомедов И.М. и др.).

Ряд авторов [10, 11] в своих работах говорят о том, что наиболее частым этиологическим фактором в развитии АВ выступают возбудители герпесвирусных инфекций, а именно вирус Эпштейна-Барр и цитомегаловирус. В некоторых случаях встречается смешанное инфицирование.

К факторам, запускающим механизм развития хронического воспалительного процесса в носоглотке, также относят: неблагоприятные климатические условия, загрязнение атмосферного воздуха, плохие бытовые и гигиенические условия. Немаловажное значение имеют неадекватное лечение, возросшая резистентность микроорганизмов к антибиотикам, увеличение числа случаев микст-инфекции, сниженный иммунный статус [12].

Еще одним фактором, располагающим к формированию аденоидов, на который стоит обратить внимание, является наличие хронических и рецидивирующих ЛОР-патологий у родителей. Кроме того, сниженная двигательная активность детей, частые простудные заболевания и дефицит витаминов в детском организме так же увеличивают вероятность развития аденоидов.

Известно, что на антенатальном этапе у детей начинает формироваться иммунная система. Во втором триместре беременности, когда у ребенка закладывается и формируется глоточная миндалина, имеются определенные риски невынашивания плода. Так называемая незрелость иммунной системы в раннем возрасте приводит к увеличению функциональной активности миндалин и их морфологическому изменению в виде аденоидных разрастаний.

Авторы выделяют несколько этиологических факторов возникновения аденоидов:

- Манифестация иммунных нарушений в организме;
- Хроническая персистирующая вирусная инфекция;
- Рецидивирующие вирусные и бактериальные инфекции (ЧБД);
- Хроническое воспаление глоточной миндалины;
- Аллергическое воспаление;
- Гормональные нарушения в организме;
- Пагубное влияние факторов внешней среды на организм ребёнка;
- Генетическая предрасположенность к гипертрофии лимфоидной ткани глотки.

В настоящее время доказано, что функциональная активность лимфоэпителиальной глоточной системы находится в тесной зависимости от возраста и морфологической зрелости ребёнка, а возрастная эволюция находится под генетическим контролем и зависит от морфотипа организма [30].

1.2 Особенности патогенеза аденоидных вегетаций

Основным звеном патогенеза считается назофарингеальная обструкция, приводящая к переходу на дыхание ртом [4]. Вдыхаемая при ротовом дыхании масса микробов и пылевых частиц оседает на слизистой оболочке гортани, трахеи, бронхов, и предрасполагает к развитию рецидивирующей инфекции нижних дыхательных путей [12].

При респираторной вирусной инфекции повреждается реснитчатый эпителий, выстилающий дыхательные пути. Это приводит к нарушению мукоцилиарного клиренса и облегчает проникновение персистирующей в носоглотке микрофлоры в придаточные пазухи носа, полость среднего уха, нижние дыхательные пути. Большинство вирусов обладает способностью ингибировать синтез интерферонов, инактивировать уже секретированный интерферон, блокировать активацию интерфероном других звеньев иммунитета или противодействовать работе антивирусных протеинов [13].

Так же обнаружено, что вирусные инфекции вызывают снижение продукцию интерферона 1-го типа и локально меняют баланс Т-клеток CD4+/CD8+ [14].

По причине хронической стимуляции (результат длительного антигенного воздействия, связанного с хроническим воспалением), миндалина глотки может увеличиваться, так что она может почти заполнять пространство в носоглотке, ограничивая проход потока воздуха [15]. Страдает функция внешнего дыхания: ограничивается экскурсия грудной клетки, дыхание становится частым и поверхностным, в результате чего уменьшается легочная вентиляция.

Вследствие снижения газообмена, уменьшения парциального давления кислорода в крови, снижается интенсивность окислительно-восстановительных

процессов. Возникает дыхательная недостаточность и повышенное содержание углекислого газа в крови [16]. Из-за увеличения сопротивления в легких, повышения артериального давления в легочной артерии, ведущей к гипертрофии правой половины сердца, развивается гипоксия, изменение внутригрудного давления и отек легких.

В результате изменения газового состава крови уменьшается число эритроцитов и количество гемоглобина, увеличивается число лейкоцитов.

Часто гипертрофия аденоидных вегетаций является первопричиной обструкции глоточного устья слуховой трубы, с активным снижением интратимпанального давления, парциального давления кислорода в барабанной полости, провоцируя в дальнейшем развитие воспалительных изменений в барабанной полости, и тем самым способствует развитию у ребенка отитов [22, 17]. Частичное или полное отсутствие носового дыхания приводят к нарушению функционирования желудочно-кишечного тракта. Возникают изменения кислотности желудочного сока, релаксация перистальтики кишечника, снижается его моторная деятельность, уменьшаются секреция и щелочность кишечного сока, всасывательная функция слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, выделение желчи и антитоксическая роль печени [22, 18].

Лимфоэпителиальная ткань носоглотки представляется обширным рецепторным полем, и при хроническом воспалении оказывается очагом непрерывной патологической афферентной импульсации, что обуславливает отклонения в работе центральной и периферической нервной систем. В последствие этого, происходит нарушение тонуса вегетативной нервной системы, ночное недержание мочи, эпилептические припадки [19].

Хронические воспалительные процессы способствуют снижению концентрации антиоксидантов в клетках. При этом степень окислительного стресса резко возрастает. Свободнорадикальное повреждение мембран лейкоцитов приводит к повышению проницаемости клеток и, следовательно, снижению их иммунной функции. Низкая способность лимфоидной ткани к

синтезу полноценных антител ведет к компенсаторной гиперплазии органов лимфоидного кольца с формированием лимфоаденопатии. А низкие уровни антиоксидантов в крови предрасполагают к частым инфекциям верхних дыхательных путей, отрицательно влияя на иммунную систему [20].

При этом в ходе внедрения микроорганизмов и повреждения эпителиальных клеток слизистой оболочки носоглотки значительно увеличивается количество вируснобактериальных антигенов в лимфоидной ткани глоточной миндалины. Для поддержания адекватного иммунного ответа происходит пролиферация лимфоидной ткани, что приводит к дальнейшему увеличению её объема [21].

1.3 Клинические проявления аденоидной гипертрофии

Основными симптоматическими симптомами аденоидной гипертрофии являются закладывание носа и выделение обильного секрета, заполняющего носовые ходы. АВ являются не только механическим препятствием; нарушая кровообращение в полости носа и носоглотки, они могут вызывать застойные явления в носу и в придаточных пазухах носа, что ведет к хроническому набуханию и воспалению слизистой оболочки носа, особенно задних концов носовых раковин, и к обильному скоплению густой вязкой слизи, закрывающей просвет хоан. Часто развивается хронический насморк. В результате затрудненного носового дыхания дети с АВ спят с открытым ртом, сон их обычно бывает беспокойным, сопровождается приступами удушья вследствие западения корня языка при опущенной нижней челюсти.

При больших аденоидных разрастаниях, заполняющих весь свод носоглотки, и набухании слизистой оболочки носа отмечаются нарушения фонации; голос, теряя свою звучность, принимает глуховатый оттенок. Все это носит название закрытой гнусавости [5].

Закрывая отверстия евстахиевых труб и нарушая нормальную вентиляцию барабанной полости, аденоиды вызывают иногда значительное понижение слуха. Дети раннего возраста иногда долго не могут научиться говорить или с

трудом овладевают речью. Вследствие того, что у ребенка постоянно открыт рот, нижняя челюсть его отвисает, носогубные складки сглаживаются. Дыхание через рот ведет к различным аномалиям скелета лица. Изменение формы лица и верхней челюсти, постоянно открытый рот, вялое и безразличное выражение лица придают ему особое выражение, получившее название аденоидного лица или внешнего аденоидизма.

У детей, в особенности детей старшего возраста, часто отмечается головная боль, которая может возникать вследствие застойных явлений, затрудняющих отток венозной крови и лимфы из полости черепа [22].

Постоянно открытый рот и вынужденное напряжение мышц лица служат причиной изменения конфигурации растущего черепа ребенка: скелет лица и головы удлиняется, верхняя челюсть выдается вперед, а нижняя отвисает. Понижается тургор лицевых мышц, в результате постоянного напряжения сглаживаются носогубные складки, и утрачивается живая мимика.

Аденоидные вегетации вызывают в большей степени турбулентное направление воздушной струи, чем в норме. В итоге, это приводит к вибрации мягкого неба, что проявляется храпом и даже синдромом обструктивного апноэ сна (задержка дыхания в результате перекрытия воздушных путей).

Нередко аденоидные вегетации осложняются воспалением глоточных миндалин (аденоидитом) [23].

Кроме того, дети с диагнозом гипертрофии глоточных миндалин часто имеют невысокий рост и сниженную массу тела в сравнении со здоровыми детьми того же возраста. Однако, по данным ряда исследований после проведения оперативного вмешательства в течение полугода у детей наблюдается увеличение показателей роста и массы тела [24, 25, 26].

Причиной, по которой может происходить скачок роста у детей, является повышенный синтез соматотропина и соматомедина-С. У детей, страдающих АВ, происходит нарушение сна, в результате чего суточная норма соматотропного гормона не вырабатывается. Среди причин увеличения

секреции соматомедина-С также рассматривается восстановление аппетита и снижение частоты респираторных инфекций [25].

1.4 Современные принципы лечения

На сегодняшний день известно два основных метода лечения аденоидных вегетаций: консервативный и хирургический.

Консервативное лечение, как правило, должно быть комплексным, направленным на уменьшение воспаления глоточной миндалины и слизистой оболочки носа, снижение сенсibilизации и повышение иммунологической реактивности организма [27]. Перед применением местных противовоспалительных препаратов осуществляют очистку полости носа и носоглотки, проводя ирригационную терапию с помощью интраназальных аэрозолей. Кроме того, применяют промывание носоглоточной миндалины растворами, в составе которых используются стандартные антисептические препараты с добавлением антибактериальных и противовоспалительных средств. При густом слизистом отделяемом из полости носа и стекании слизи по задней стенке глотки применяют муколитические препараты.

В качестве иммунотерапии используют бактериальные иммуномодуляторы - лизаты местного и системного применения. Они включают лиофилизированные экстракты основных респираторных патогенов. Эти лекарства усиливают специфический иммунный ответ и активизируют иммунную защиту [28].

Современный подход к лечению аденоидных разрастаний включает целый ряд методов хирургического лечения: стандартная аденотомия в положении сидя под местной анестезией, аденотомия путем использования физических методов, шейверная аденотомия, эндоскопическая аденотомия и неполное удаление аденоидной ткани [29].

В настоящее время основной объем вмешательств в детской оториноларингологии составляют аденотомии, которые уже много лет являются

радикальным способом лечения патологии лимфаденоидного глоточного кольца [4, 22].

Однако необоснованное удаление лимфоидных образований может привести к формированию иммунодефицитных состояний. К наиболее часто встречающимся осложнениям при хирургическом вмешательстве относят кровотечения, инфекционные осложнения (флегмона шеи, тонзиллогенный сепсис) и повреждение лицевого нерва. Для предотвращения кровотечений на лимфаглоточном кольце проводят заднюю тампонаду и ушивание небных ниш.

В связи с таким количеством осложнений вопрос об аденотомии в обязательном порядке должен быть рассмотрен только при отсутствии эффекта от лечения, либо при кратковременном эффекте от 1-2 курсов консервативного лечения [19].

Вопрос о правильном подходе к лечению гипертрофии глоточной миндалины до сих пор активно изучается. Момент перехода от консервативного терапевтического лечения патологии лимфаглоточного кольца к хирургическому вмешательству врачами не обозначен [30].

1.5 Ассоциация генетических полиморфизмов с гипертрофией аденоидных вегетаций

К факторам врожденного иммунитета относят как клеточное звено (лейкоциты, макрофаги, тучные клетки), так и гуморальное (цитокины, комплемент, белки острой фазы, противомикробные пептиды).

В группу противомикробных пептидов входят бета-дефенсины (hBD – human beta-defensin). β -дефенсин-1 считается одним из самых значимых антимикробных пептидов в эпителиальных тканях. Эти белки обладают целым рядом функций: обеспечивают противогрибковую, противовирусную и противобактериальную защиту; участвуют в созревании дендритных клеток, в хемотаксисе, стимулирует экспрессию провоспалительных цитокинов.

Первичная структура пептида hBD-1 представлена 36 аминокислотами, из которых 36% составляют гидрофобные. Заряд молекулы белка равен +5 [31]. В

микромольных концентрациях β -дефенсин-1 обладает способностью убивать или инактивировать грамположительные и грамотрицательные бактерии, оболочечные РНК- и ДНК-вирусы. Это происходит либо путем прямого контакта пептида с бактериями и вирусами, либо косвенно, за счет запуска ряда врожденных и адаптивных иммунных реакций [32]. Механизм противомикробной активности объясняют электростатическими взаимодействиями между отрицательно заряженной клеточной стенкой бактерий и положительно заряженным пептидом и последующим встраиванием пептида в мембрану клетки-мишени за счет гидрофобных взаимодействий, что приводит к формированию в мембране пор, нарушающих целостность мембраны.

Антибактериальное действие пептида β -дефенсина-1 выражается в нарушении целостности билипидного слоя мембраны бактериальных клеток. Вследствие чего содержимое бактериальной клетки оказывается снаружи, и она погибает [32, 33].

Ген DEFB-1 отвечает за экспрессию белка β -дефенсин-1 в клетках реснитчатого эпителия носоглотки. Этот ген располагается на коротком плече 8 хромосомы. Полиморфизм гена DEFB-1 может быть ассоциирован с выраженностью продукции β -дефенсина 1 на уровне слизистых оболочек, поэтому данным полиморфизмом можно объяснить различную восприимчивость к заболеваниям инфекционного происхождения [34].

Свитич с соавторами [35] утверждает, что дефекты на уровне гена DEFB-1 могут снижать экспрессию соответствующих белков и приводить к уменьшению защиты на уровне слизистых оболочек. Однонуклеотидная замена в промоторной последовательности 5'НТО (нетранслируемой области) может изменить эффективность транскрипции гена и привести к изменению количества синтезируемого продукта. Соответственно риск развития гипертрофии аденоидных разрастаний может существенно увеличиться.

В проведенном авторами исследовании [35] было показано, что полиморфизм гена DEFB-1 (генотип GG в положении (-20) и (-44) в промоторной

области 5'-НТО) достоверно ассоциирован с гипертрофией аденоидных вегетаций.

1.6 Метаболизм и функциональная активность лимфоцитов

Лимфоциты играют важную роль в осуществлении иммунной защиты организма. Полноценная функциональная активность этих клеток способствует хорошей ответной реакции организма. Под влиянием антигенной стимуляции иммунокомпетентные клетки осуществляют выработку интерферонов и цитокинов [36].

Активированные иммунные клетки адаптируют клеточный метаболизм для приспособления к новым потребностям в синтезе большого количества биомолекул и АТФ.

Источником энергии для лимфоцитов служат гликолиз и окислительное фосфорилирование. Глюкоза является наиболее важным структурным элементом для поддержания жизнеспособности, активации и продукции цитокинов лимфоцитами. Кроме того глюкоза считается основным субстратом для синтеза АТФ, источником углерода для образования других макромолекул, к числу которых относят нуклеиновые кислоты (НК) и фосфолипиды [37].

Кроме глюкозы источником энергии для Т-лимфоцитов может выступать глутамин, в редких случаях жирные кислоты и кетоновые тела. Т-клетки обладают способностью адаптироваться и увеличивать поглощение глутамина, осуществлять глютаминолиз для поддержки клеточного метаболизма в ответ на низкий уровень глюкозы в клетке [38].

Для производства иммуноглобулинов в лимфоцитах функционирует система синтеза белков, в связи с этим клеткам требуются приличные затраты энергии [39, 47].

Помимо ферментов аэробного гликолиза в цитоплазме лимфоцитов функционируют ферменты пентозофосфатного пути (ПФП). Примерно 2 % всей потребляемой клетками глюкозы утилизируется благодаря работе ПФП. Основная роль этого метаболического пути заключается в синтезе рибозо-5-

фосфата, который необходим для образования НК. Кроме того в лимфоцитах присутствуют оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы и другие ферменты [40].

В результате стимуляции в лимфоцитах активируются как анаэробный гликолиз, что определяется увеличением активности фосфофруктокиназы, ЛДГ и пируватдегидрогеназы, так и аэробный. При изменении интенсивности дыхания в активированных лимфоцитах происходят изменения активности ферментов белкового, липидного и пуринового обменов.

Активация лимфоцитов приводит к быстрому увеличению экспрессии переносчика глюкозы (GLUT1), что обеспечивает увеличение поглощения глюкозы и ее метаболизм в клетках *in vivo* и *in vitro* [41, 42]. После активации метаболические возможности лимфоцитов возрастают, в результате чего клетки активно синтезируют различные компоненты, включая липиды мембран, нуклеиновые кислоты и белки. Лимфоциты перестраивают метаболизм на аэробный гликолиз, обеспечивающий достаточное количество метаболитов для синтеза макромолекул [41].

Известно, что в мембране лимфоцитов наступают метаболические изменения практически сразу после контакта клетки с антигеном. К примеру, происходит активация натрий-калиевой АТФазы, которая осуществляет закачивание ионов калия в клетку, а ионов натрия из клетки против градиентов их концентраций [43].

Распределение потока пирувата между пируватдегидрогеназным комплексом и пируваткарбоксилазой в митохондриях, координация цикла трикарбоновых кислот и изменение потока электронов в дыхательной цепи осуществляется через изменение окислительно-восстановительного баланса между НАД⁺ и НАДН. Таким же образом осуществляется динамическое равновесие между окислением глюкозы в реакциях аэробного гликолиза и НАДФ-зависимом пентозофосфатном пути. В качестве субстрата НАД окисленный принимает участие в ДНК-лигазной реакции в процессах репарации ДНК [44]. Активация синтеза пиридиновых гетероциклов, происходящая в активированных иммунокомпетентных клетках, необходима не только для

поддержания оксидоредуктазных реакций, но и для синтеза ДНК, а также процессов репарации.

Как было сказано ранее, 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 [45].

Ферментативная активность является чувствительным показателем функционального состояния лимфоцитов, и эти показатели используются не только в диагностических, но и в прогностических целях. Ферментный состав лимфоцитов периферической крови позволяет наиболее полно оценить картину изменений в лимфоидной системе в процессе формирования иммунного ответа в норме или при развитии иммунопатологического процесса [46].

Поскольку в основе функциональной активности лимфоцитов лежат обменные реакции, предполагается высокая значимость метаболических процессов лимфоцитов в обеспечении защитных реакций организма. Причем, метаболический ответ лимфоцитов на воздействие антигена зависит от исходного уровня обмена веществ, который характеризуется активностью и соотношением энергетических и пластических процессов в клетках. Именно от исходного состояния метаболизма лимфоцитов зависит скорость и интенсивность иммунологических реакций, а также функциональная активность клеток.

1.7 Роль исследуемых НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в организме человека

Оксидоредуктазы и дегидрогеназы считаются ключевыми ферментами, отражающими метаболические изменения в клетках. Это связано с тем, что, дегидрогеназы, являясь основными переносчиками электронов в клетке, осуществляют основные реакции метаболизма клеток.

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) – фермент, катализирующий ключевую реакцию ПФП в цитозоле клеток и приводящий к образованию клеточного НАДФН из НАДФ⁺. В пентозофосфатном цикле Г6ФДГ катализирует реакцию дегидрирования глюкозо-6-фосфата и кофермента НАДФ с образованием 6-фосфоглюконо-δ-лактона.

Пентозофосфатный цикл играет важную роль в системе внутриклеточного метаболизма. Этот цикл является прямым поставщиком восстановленных НАДФН для реакций синтеза жирных кислот и холестерина. Кроме того, ПФП поставляет различные пентозофосфаты, необходимые для реакций биосинтеза некоторых коферментов и НК [47].

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (ГЗФДГ, КФ 1.1.1.8) – фермент, катализирующий окисление глицеро-3-фосфата до диоксиацетонфосфата в цитоплазме клетки. ГЗФДГ входит в состав ферментов глицерофосфатного челночного механизма, который обеспечивает переход электронов от НАДН из цитозоля в митохондрии. Кофермент НАДН не имеет возможности самостоятельно пересекать митохондриальную мембрану, в связи с чем цитоплазматическая форма НАДН сначала реагирует с диоксиацетонфосфатом с образованием глицерол-3-фосфат. Данная реакция катализируется НАД-зависимой цитоплазматической ГЗФДГ. Образовавшийся глицерол-3-фосфат легко проникает через митохондриальную мембрану. Внутри митохондрии другая (митохондриальная ФАД-зависимая) ГЗФДГ окисляет глицеро-3-фосфат до диоксиацетонфосфата. Таким путем электроны поступают в дыхательную цепь [47].

Фермент занимает центральное положение в реакциях липидного обмена. В реакциях катаболизма липидов субстрат глицерол-3-фосфат переводится на анаэробное окисление глюкозы с участием глицерол-3-фосфатдегидрогеназы.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) - фермент, который принимает участие в анаэробном гликолизе. ЛДГ катализирует превращение молочной кислоты в пировиноградную кислоту с образованием НАДН.

Лактатдегидрогеназа наиболее активна в скелетной и сердечной мускулатуре, почках, печени и форменных элементах крови [47].

Лактатдегидрогеназа занимает ключевое положение в регуляции цитоплазматического уровня НАДН/НАД. При избыточном количестве НАДН в цитоплазме анаэробная форма ЛДГ осуществляет превращение пирувата в лактат, который затем удаляется из клетки. При этом в аэробных условиях ЛДГ способен окислять молочную кислоту до пирувата с образованием НАДН. Образовавшаяся таким путем пировиноградная кислота поступает далее в пируватдегидрогеназный комплекс.

Глутатионредуктаза (ГР, КФ 1.6.4.2) - фермент, осуществляющий восстановление окисленного глутатиона (рис. 1). Снижение активности ГР в лимфоцитах может способствовать повышению содержания окисленного глутатиона. Восстановленный глутатион требуется для поддержания в восстановленной форме SH-групп белков и предотвращения перекисного окисления липидов мембран.

Высокий уровень окисленного глутатиона в свою очередь при пероксидном стрессе активирует пентозный цикл. С этой точки зрения снижение активности ГР может быть необходимо для регуляторных процессов. Кофермент НАДФН, необходимый ГР, генерируется в гексозомонофосфатном пути метаболизма глюкозы, ключевым ферментом которого является Г6ФДГ [48].



Рисунок 1 - Реакция восстановления окисленного глутатиона под действием ГР

Малатдегидрогеназа (МДГ, КФ 1.1.1.37) - конечный фермент цикла Кребса. Катализирует обратимую окислительно-восстановительную реакцию перехода малата в оксалоацетат. Необратимо ингибируется ионами тяжелых металлов. Малатдегидрогеназа представлена двумя строго дифференцированными по локализации (митохондрии и цитоплазма)

изоферментами. МДГ принимает участие в работе малат-аспаратного водородного шунта митохондрий [47].

НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа (НАДФ-МДГ, КФ 1.1.1.40) – декарбоксилирующая малатдегидрогеназа (так называемый малик-фермент) катализирует легко обратимую реакцию образования яблочной кислоты из пирувата и CO_2 , а также реакцию декарбоксилирования щавелевоуксусной кислоты. НАДФ-МДГ также принимает участие в реакциях катаболизма ксенобиотиков.

Глутаматдегидрогеназа (ГДГ, КФ 1.4.1.2) - фермент, катализирующий превращение L-глутаминовой и 2-оксоглутаровой кислот с образованием α -кетоглутаровой кислоты и промежуточным выходом аммиака. Существуют ГДГ специфичные к НАД (НАД-ГДГ, КФ 1.4.1.2) или НАДФ (НАДФ-ГДГ, КФ 1.4.1.4). Реакция образования α -кетоглутарата для обеих форм фермента является обратимой.

Глутаматдегидрогеназа обычно состоит из 4 или 6 одинаковых субъединиц. В активном центре содержатся остатки лизина, тирозина и цистеина. При диссоциации ГДГ на субъединицы, которая происходит в присутствии НАДН, ГТФ и ряда стероидных гормонов, энзим теряет способность осуществлять окислительное дезаминирование глутамата, но приобретает способность осуществлять дезаминирование ряда других аминокислот [47].

Изоцитратдегидрогеназа – фермент, катализирующий реакцию декарбоксилирования изоцитрата с образованием α -кетоглутаровой кислоты. Существует два типа данного фермента: НАД-зависимый (НАД-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41), который находится исключительно в митохондриях и НАДФ-зависимый (НАДФ-ИЦДГ, КФ 1.1.1.42), способный находится как в митохондриях, так и в цитоплазме.

2 Материалы и методы

2.1 Объект исследования

Обследовано 143 ребенка г. Красноярска, из них 80 (55,94%) мальчиков и 63 (44,06%) девочки. Данные о распределении обследованных детей по возрастным группам представлены в таблице А.1 в приложении А.

Были сформированы группы детей в возрасте от 3 до 5 лет, от 6 до 9 лет, от 10 до 15 лет, находившихся на стационарном лечении в ГДБ №4 с диагнозами – аденоидные вегетации II и III степеней. У детей имелись выраженные клинические проявления ГГМ (постоянно открытый рот, затрудненное носовое дыхание, слизисто-гнойное отделяемое из носа, храп в ночное время суток). Диагноз гипертрофия глоточной миндалины поставлен врачом Сидоровой Ольгой Юрьевной на основании клинических симптомов и эндоскопического осмотра.

Контрольную группу составили дети трех возрастных групп: 3-5 лет, 6-9 лет, 10-15 лет, не имеющие в анамнезе хронических болезней и заболеваний носоглотки, в том числе лимфоглоточного кольца.

Критерии исключения из исследования: наличие у детей подтвержденного диагноза гипертрофии глоточной миндалины I степени, а также наличие сопутствующих заболеваний (аллергические, аутоиммунные, эндокринные).

Объектом исследования являлась венозная кровь, забранная из локтевой вены утром натощак.

Родители всех обследованных детей давали письменное информированное согласие на обработку персональных данных и проведение исследования.

2.2 Выделение лимфоцитов крови

Выделение лимфоцитов периферической крови проводилось по методу А. Воуит. Лимфоциты выделяли из периферической венозной крови с антикоагулянтом (3% раствор ЭДТА на 0,85% забуференном растворе NaCl, pH 7,4) на градиенте плотности фиколл-верографина ($\rho=1,077 \text{ г/см}^3$) [49].

Полученную венозную кровь аккуратно перемешивали и разводили физиологическим раствором NaCl в 1,5 раза. Далее кровь центрифугировали 18

минут при 1000 об/мин. Затем супернатант, обогащенный лейкоцитами, осторожно наслаивали на раствор фиколл-верографина (объемом 2 мл, плотностью 1,077 г/см³) и центрифугировали в течение 30 минут при 1500 об/мин.

После центрифугирования кольцо лимфоцитов, осевших на фиколл-верографине, собирали, отмывали ресуспендированием в физиологическом растворе NaCl и центрифугированием 15 минут при 1000 об/мин. Процедуру отмывания клеток повторяли дважды. В дальнейшем супернатант сливали, а взвесь лимфоцитов ресуспендировали в 1 мл среды 199 и подсчитывали концентрацию клеток во взвеси в камере Горяева. Контроль морфологического состава взвесей производили окрашиванием мазков по Романовскому-Гимзе. Чистота полученных популяций лимфоцитов составляла 92-95%.

Выделенные лимфоциты в концентрации 1 млн/мл замораживали в пробирках при -18 °С для хранения и последующего определения активности ферментов.

2.3 Биоломинисцентный метод определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови проводили с помощью биоломинисцентного метода [50].

Данным методом определяли активность следующих ферментов: глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глутатионредуктазы (ГР), прямой и обратной формы лактатдегидрогеназы (ЛДГ, Обр.ЛДГ), прямой и обратной формы малатдегидрогеназы (МДГ и Обр.МДГ), НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (НАДФ-МДГ), прямой и обратной формы НАД-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ, Обр.НАД-ГДГ), прямой и обратной формы НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФ-ГДГ, Обр.НАДФ-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАД-ИДГ, НАДФ-ИДГ).

Исследование проводили на ферментативном препарате НАД(Ф): ФМН оксидоредуктаза-люцифераза, полученной путем ионообменной хроматографии и гель-фильтрации из *Photobacterium leiognatli* оксидоредуктаза из *Vibrio fischeri* в Институте Биофизики СО РАН, г. Красноярск. Измерение уровня биолюминесценции производили с помощью биолуцинометра «БЛМ-3307» (сконструирован в СКТБ «Наука», г. Красноярск).

Суспензию выделенных лимфоцитов, содержащую клетки в концентрации 1 млн/мл, после однократного замораживания-размораживания дополнительно разрушали путем осмотического лизиса при добавлении дистиллированной воды (на 1 мл суспензии 4 мл дистиллированной H₂O).

Для определения активности ферментов готовили инкубационную смесь, содержащую соответствующий субстрат и кофактор. Далее в инкубационную смесь, объемом 150 мкл вносили 50 мкл суспензии разрушенных лимфоцитов.

В таблице 1 представлены определенные значения концентраций субстратов и кофакторов, а также pH среды для определяемых ферментов. Важно заметить, что для определения активности НАД- и НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы в инкубационную смесь дополнительно добавляли АДФ в концентрациях 2,15 и 1,3 мМ соответственно. Для определения уровней активности Обр.НАД-ГДГ и Обр.НАДФ-ГДГ в среду дополнительно вносили NH₄Cl в концентрации 5,0 мМ, а для определения глутатионредуктазы – ЭДТА в концентрации 0,5 мМ.

Таблица 1 - Концентрация субстратов, кофакторов и показатели pH среды для определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биолюминесцентным методом

Фермент	Субстрат – мМ	Кофактор – мМ	pH буфера
ГЗФДГ	ГЗФ - 0,5	НАД – 0,35	9,8

Г6ФДГ	Г6Ф – 1,5	НАДФ – 0,025	9,8
ЛДГ	Лактат – 2,0	НАД – 0,50	9,0
МДГ	Малат – 2,0	НАД – 2,50	9,8
НАДФ-МДГ	Малат – 7,5	НАДФ – 0,375	9,8
НАДФ-ГДГ	Глутамат – 0,5	НАДФ – 1,65	9,8
НАД-ГДГ	Глутамат – 8,7	НАД – 8,10	9,8
НАД-ИДГ	Изоцитрат – 5,0	НАД – 5,0	7,8
НАДФ-ИДГ	Изоцитрат – 1,375	НАДФ – 0,075	7,4
Обр.ЛДГ	Пируват – 0,25	НАДН – 0,005	7,0
Обр.МДГ	Оксалоацетат – 0,5	НАДН – 0,005	7,0
ГР	GSH – 0,5	НАДФН – 0,0025	7,4
Обр.НАДФ-ГДГ	Оксоглутарат – 100	НАДФН – 0,0025	7,4
Обр.НАД-ГДГ	Оксоглутарат – 100	НАДН – 0,0025	7,0

Примечание: среды с рН 9,0 и 9,8 подготовили на Трис-НСl буфере; с рН 7,0, 7,4 и 7,8 – на K^+ , Na^+ -фосфатном буфере

После инкубации исследуемых проб при 37°C в течение 30 минут (для ферментативных реакций с восстановлением НАД(Ф)⁺) или 5 минут (для реакций с окислением НАД(Ф)Н) к 200 мкл пробы добавляли 50 мкл флавиномононуклеотида (ФМН) в концентрации $1,5 \cdot 10^{-5} M$, 50 мкл 0,0005% миристинового альдегида и 10 мкл ферментативной системы НАД(Ф)Н: ФМН оксидоредуктаза-люцифераза (все реактивы биолюминесцентной системы разведены в 0,1 М K^+ , Na^+ -фосфатном буфере с рН 7,0).

Важно учесть, что в разрушенных клетках присутствует некое количество субстрата для работы исследуемых ферментов. Для того чтобы результат не был ложно завышенным определяли «субстратный фон ферментов». Причем определение проводили при тех же условиях, но в инкубационную пробу вместо соответствующего субстрата добавляли буфер.

В результате измерения свечения на биолюминометре получили относительные значения активности исследуемых ферментов. Для получения абсолютных значений активности строили график зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации НАД(Ф)Н (калибровочный график). Для

этого 200 мкл стандартного раствора НАД(Ф)Н в диапазоне $10^{-9} - 10^{-4}$ М вносили в кювету биолюминометра, содержащую биолюминесцентные реактивы в концентрациях указанных выше, после чего производилось измерение интенсивности свечения. В связи с широким диапазоном рН буферов, используемых для определения дегидрогеназной активности, а также рН-зависимостью биолюминесценции ферментативной системы, калибровочные графики строились для каждого рН буфера.

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов рассчитывали по формуле :

$$A = \frac{\Delta[C] \times V}{T}, \quad (1)$$

где: А-активность фермента;

$\Delta[C]$ – разница концентраций НАД(Ф)Н в пробах «фермент» и «фон фермента»;

V – объем пробы в миллилитрах;

T – время инкубации в минутах.

Активность ферментов выражали в ферментативных единицах на 10^4 лимфоцитов (1Е – мкмоль/мин) [51].

2.4 Статистический анализ данных

Статистический анализ результатов исследования был выполнен с помощью пакетов прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Excel. По результатам исследования была сформирована база данных.

Для всех данных определяли медиану (Me) и интерквартильный разброс в виде подсчета 25- (C₂₅) и 75-процентилей (C₇₅). Проверку гипотезы о статистической достоверности двух выборок проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (U) [52]. Различия между средними величинами в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости (p) < 0,05.

Для определения зависимости между исследуемыми показателями вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Из текста ВКР изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АВ – аденоидные вегетации
- АДФ - аденозиндифосфат
- ГЗФДГ – глицерол-3-фосфатдегидрогеназа
- Г6ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
- ГР – глутатион-дисульфидредуктаза
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- МДГ – малатдегидрогеназа
- НАД – никотинамиддинуклеотид
- НАДФ – никотинамиддинуклеотидфосфат
- НАД-ГДГ – НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа
- НАД-ИДГ – НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа
- НАДФ-МДГ – НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа (малик-фермент)
- НАДФ-ГДГ – НАДФ-зависимая глутаматдегидрогеназа
- НАДФ-ИДГ – НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа
- НК – нуклеиновые кислоты
- Обр. ЛДГ – обратная форма лактатдегидрогеназы
- Обр. МДГ – обратная форма малатдегидрогеназы
- Обр. НАД-ГДГ – обратная форма НАД-зависимой глутаматдегидрогеназы
- Обр. НАДФ-ГДГ – обратная форма НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы
- ПФП – пентозофосфатный путь
- ФМН – флавинмононуклеотид
- ЦТК – цикл трикарбоновых кислот
- ЧБД – часто болеющие дети
- ЭДТА – этилетдиаминтетрауксусная кислота

GSH – глутатион восстановленный

GSSG – глутатион окисленный

hBD – бета-дефенсин человека

α -КТГ – альфа-кетоглутонат

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Bugova, G. The presence of atopy and its effect on bacterial colonization of the upper airways in children with adenoid vegetation / G. Bugova, B. Uhliarova, M. Jesenak // Polish Journal of Allergology. – 2017. – С. 46-52.
2. Терскова, Н. В. Загрязнение атмосферного воздуха как фактор риска гипертрофии глоточной миндалины / Н. В. Терскова, А. И. Николаева, С.Г. Вахрушев // Сибирское медицинское обозрение. - 2013. - № 5. - С. 59-64.
3. Калинин, Д. В. Патоморфология аденоидных вегетаций в возрастном аспекте (морфометрическое и иммуногистохимическое исследование): дис. ... канд. мед.наук: 14.03.02 / Калинин Дмитрий Валерьевич. – Москва. - 2013. – 16 с.
4. Богомильский, М. Р. Аденоиды / М. Р. Богомильский // Вест. оториноларингологии. – 2013. - № 3. – С. 61-64.
5. Богомильский, М. Р. Особенности врожденного иммунитета у здоровых детей и у детей с гипертрофией аденоидных вегетаций / М. Р. Богомильский, О. А. Свитич // Вестник РГМУ. - № 4. – 2015. – с. 24-27.
6. O'Neill A guide to immunometabolism for immunologists / O'Neill, L. A. Kishton, R. J. & Rathmell // Nat. Rev. Immunol. -2016. - p. 267-278.
7. Jacobs, S. R. Lymphocyte selection by starvation: glucose metabolism and cell death / S. R. Jacobs, J. C. Rathmell // Trends Immunol. –2016. –Vol. 27, № 1. –Р. 4-7.
8. Покровский, В. И. Малая медицинская энциклопедия (Аденоиды) / под ред. В. И. Покровского // Советская энциклопедия. - 1991. - 577 с.
9. Буцель, А. Ч. Гипертрофия лимфоэпителиального кольца глотки : учеб.-метод. пособие / А. Ч. Буцель, И. В. Долина. – Минск : БГМУ, 2011. – 14 с.
10. Дроздова, М. В. Экссудативный средний отит у детей с хроническим лимфопролиферативным синдромом / М. В. Дроздова, Ю. С. Преображенская, Е. В. Тырнова // Рос. оторинолар. – 2011. – № 4 (53). – С. 62–68.

11. Савенко, И. В. Эпштейна–Барр вирусная инфекция как этиологический и патогенетический фактор формирования экссудативного среднего отита в детском возрасте / И. В. Савенко, М. Д. Субботина, Е. А. Комарова // Вестн. оторинолар. – 2008. – № 4. – С. 49–53.
12. Левина, А. С. Персистирующие инфекции у детей с хроническими заболеваниями ЛОР-органов: возможности этиотропной терапии / А. С. Левина, И. В. Бабаченко // Вестн. оториноларингологии. – 2015. - № 5. – С. 46-50.
13. Varella, M. The airway epithelium: soldier in the fight against respiratory viruses / M. Varella, E. Kieninger, M. R. Edwards // Clinical Microbiology Reviews № 1. – 2011. - P. 210 – 229.
14. Buzatto, G. P. The pathogens profile in children with otitis media with effusion and adenoidhypertrophy / G. P. Buzatto, E. Tamashiro, J.L. Proenca-Modena et al. // PLoSOne. – 2017; 12(2).
15. Ameli, F. Tonsil volume and allergic rhinitis in children / F. Ameli, F. Brocchetti, M.A. Tosca // Allergy Rhinol. - 2014. - № 5. - С. 137-142.
16. Рябова, М. А. Хронический аденоидит: новый взгляд на старую проблему / М. А. Рябова, О. М. Колесникова // Consilium medicum. – 2015. - № 4. – С. 22-25.
17. Пухлик, С. М. Новый подход к лечению детей с гипертрофией глоточной миндалины / С. М. Пухлик, Э. Г. Нейверт // Журн. ушных, горловых и носовых болезней. – 2000. - №2. – 37 с.
18. Покровская, Е. М. Этиологическая структура возбудителей адено tonsзиллитов у детей / Е. М. Покровская, С. В. Халлиулина, К. Р. Халлиулина // Практическая медицина. – 2016. - №3(95). – С. 58-63.
19. Карпова, Е. П. Гипертрофия аденоидных вегетаций и аденоиды : учеб. пособие для врачей / Е. П. Карпова, Д.А. Тулупов. – Москва. – 2013. – 51 с.
20. Yılmaz, T. The role of oxidants and antioxidants in chronic tonsillitis and adenoid hypertrophy in children / T. Yılmaz, E. Gülin Koçan, // International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. – 2004. - с. 1053–1058.

21. Сапожников, В. Г. О гипертрофии глоточной миндалины в педиатрической практике / В. Г. Сапожников, Ю. А. Холина, А. Д. Ларикова // Вестник новых медицинских технологий. – 2017. – с. 99-102.
22. Гаращенко, Т. И. Аденоиды у детей и пути профилактики гиперплазии глоточной миндалины / Т. И. Гаращенко, М. В. Гаращенко // Детская оториноларингология. – 2013. - №4. – С. 73-76.
23. Пруидзе, Е. А. Гипертрофия носоглоточной миндалины у детей / Е.А. Пруидзе // Вестник Бурятской медицины. – 2011. – с. 257-260.
24. Farmarzi, M. Effects of adenotonsillectomy on serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 and growth indices in children with adenotonsillar hypertrophy or recurrent tonsillitis / M. Farmarzi, M. Shishegar, S.T. Heydari et al. // Iran J Otorhinolaryngol. – 2016. – P. 329-335.
25. Hashemian, F. Changes in growth pattern after adenotonsillectomy in children under 12 years old / F. Hashemian, F. Farahani, M. Sanatkar // Acta Medica Iranica, №5. – 2010. – P. 316-319.
26. Tahara, S. Evaluation of body growth in prepubertal Japanese children with obstructive sleep apnea after adenotonsillectomy over a long postoperative period / S. Tahara, H. Hara, H. Yamashita // Int J Pediatr Otorhinolaryngol. – 2015. – 180 p.
27. Вавилова, В. П. Значение аденотонзиллярной патологии в развитии кашля у детей в практике врача первичного звена здравоохранения / В. П. Вавилова, Н. И. Тарасов, О. А. Вайман // Consilium medicum. Педиатрия № 4. – 2010. – С. 34-35.
28. Пискунова, А. С. Современные возможности терапии аденоидных вегетаций в педиатрической практике / А. С. Пискунова // Практика педиатра № 2. – Москва. – 2019. – 6 с.
29. Очиллов, Р. Т. Современные данные о проблеме лимфоэпителиального глоточного кольца / Р. Т. Очиллов // Российская оториноларингология № 1. – 2014. - С. 169-171.

30. Волков, А. Г. Кластерный анализ факторов риска развития гипертрофии глоточной миндалины у детей / А. Г. Волков, А. А. Лебедеенко, Г. И. Кирий // Медицинский вестник Юга России. – 2015. – с. 31-34.
31. Wang, G. Antimicrobial peptides: discovery, design and novel therapeutic strategies (Series: Advances in molecular and cellular microbiology; 18.) / G. Wang // Chippenham UK, CPI Antony Rowe. – CAB International, 2017. – 230 p.
32. Bals, R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection / R. Bals // Respir. Res. – 2016. – № 3. – P. 141–150.
33. Wiesner J., Vilcinskas A. Antimicrobial peptides // Virulence. – 2010. – Vol. 1, I. 5. – P. 440–464.
34. Semple, C. A. The complexity of selection at the major primate beta-defensin locus / C. A. Semple, A. Maxwell, P. Gautier et al. // BMC Evol. Biol. - 2005. - №1. – 32 p.
35. Свитич, О. А. Ассоциация полиморфных маркеров, локализованных в 5'-нетранслируемой области гена β -дефенсина DEFB1, с гипертрофией аденоидных вегетаций / О. А. Свитич, Л. В. Ганковская, И. В. Рахманова // Медико-биологические проблемы. – Москва. – 2012. – С. 59-62.
36. Charles, A. Immunobiology: the immune system in health and disease / A. Charles, J. Janeway // Garland Publishing. – 2001. – p. 53-55.
37. Jacobs, S. R. IL-7 is essential for homeostatic control of T cell metabolism in vivo / S. R. Jacobs, R. D. Michalek, J. C. Rathmell // J. Immunol. – 2010 Apr. – Vol. 184, N 7. – P. 3461–3469.
38. Roisín M. Loftus Immunometabolism: Cellular Metabolism Turns Immune Regulator / Roisín M. Loftus, David K. Finlay // The journal of biological chemistry. - 2016. – p. 3-16.
39. Андрейчиков, А. В. Детерминированность метаболического иммунодефицита при аномалиях положения почек: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.16 [Текст] / Андрейчиков Александр Владимирович. – Томск, 2003. – 202 с.

40. Шейбак, В. М. Спектр свободных протеиногенных аминокислот в лимфоцитах / В. М. Шейбак, М. В. Горецкая, Е. М. Дорошенко // Оригинальные исследования ГрГМУ. – 2008. – С. 62-66.
41. Michalek, R. D. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets / R. D. Michalek [et al.] // J. Immunol. – 2011. – Vol. 186, N 6. – P. 3299–3303.
42. Шейбак, В. М. Метаболическая активность лимфоцитов при введении биологически активных веществ и ксенобиотиков // В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 37–43.
43. Amigorena S. Ion channel and B-cell mitogenesis / S. Amigorena, H. Korn, W. H. Fridman et al. // Mol. Immunol. – 1990. - № 12. – p. 1259-1268.
44. Лелевич, В. В. Биологическая химия: пособие для студентов лечебного факультета / В. В. Лелевич // ГрГМУ. – 2009. – С. 124-131.
45. Board, M. Maximum activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle in normal, neoplastic and suppressed cells / M. Board, S. Humm, E. A. Newsholme // Biochem.J. – 2012. – P. 504-510.
46. Kotzamanis, K. Infection homeostasis: implications for therapeutic and immune programming of metabolism in controlling infection [Text] / K. Kotzamanis, A. Angulo, P. Ghazal // Med. Microbiol. Immunol. – 2015. – Vol. 204, № 3. – P. 395-407.
47. Савченко, А. А. Основы клинической иммунометаболомики: учебник / А. А. Савченко, А. Г. Борисов // Наука. – Новосибирск. - 2012. – С. 25-35.
48. Гаврилюк, Л. А. Состояние системы глутатионредуктаза-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа в крови больных с лимфомой / Л. А. Гаврилюк // Журн. Медицинские науки. - № 2. – 2016. – с. 37-40.
49. Boyum, A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 1968. - Vol.21 (Suppl. 77) - P.77-79.

50. Савченко, А. А. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови билюминесцентным методом / А. А. Савченко, Л. Н. Сунцова // Лаб. дело. - 1989. - № 11. - С. 23-25.

51. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин // Медицина. – Москва. - 1998. – 704 с.

52. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва // Медиасфера. – 2003. – 305 с.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



Е. И. Шишацкая

подпись

инициалы, фамилия

« 07 » 07 2020 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови у детей
с аденоидными вегетациями

тема


06.04.01 Биология

код и наименование направления

06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия

код и наименование магистерской программы

Научный руководитель

 3.07.20

подпись, дата


доцент, к.б.н.

должность, ученая степень

Ю.С.Акопова

инициалы, фамилия

Выпускник


 3.07.20 гр. ББ 18-05М

подпись, дата

К.Р.Жуланова

инициалы, фамилия

Рецензент

 6.07.20

подпись, дата

доцент, к.м.н.

должность, ученая степень

Н.Ю.Гришкевич

инициалы, фамилия

Красноярск 2020