

*М.І.Поліщук, Л.В.Колубакіна, С.А.Черевко,
І.Ю.Давиденко, Н.М.Шевчук*

СТАН КИСНЕЗАЛЕЖНОГО МЕТАБОЛІЗМУ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ДІТЕЙ, ЯКІ ПЕРЕНЕСЛИ “ХІМІЧНУ ЕКЗОГЕННУ ІНТОКСИКАЦІЮ”

Кафедра дитячих хвороб №1 (зав. каф. – проф. Л.О.Безруков)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Проведено комплексне обстеження 103 дітей, серед них 75 дітей, які перенесли “хімічну екзогенну інтоксикацію”, та 28 дітей з вогнищевою алопецією, що захворіли в м.Чернівці в 1988 році. Контрольну групу склали здорові діти, обстежені в 1987 та 1992 році до та після виникнення “хімічної хвороби”. Всім дітям проводилось комплексне імунологічне обстеження з визначенням рівня імуноглобулінів крові, системи комплементів, функціонального стану нейтрофілів крові за НСТ-тестом, рівнем активності мієлопероксидази, вмістом глікогену, аміногруп білків та фосфоліпідів. У дітей, які перенесли “хімічну екзогенну інтоксикацію”, виявлено достовірно нижчий резерв киснезалежного метаболізму нейтрофілів крові, достовірно нижчу активність мієлопероксидази та вміст вільних аміногруп білків нейтрофілів крові. Порівнюючи показники у дітей, які перенесли вогнищеву алопецію, дійшли висновку, що це – окремі захворювання.

При обстеженні дітей, що перенесли аденотонзиліти та з групи часто та тривало хворіючих (ЧТХ) визначено, що основні показники груп порівняння зберігались, незважаючи на соматичну патологію.

Ключові слова: “хімічна екзогенна інтоксикація”, киснезалежний метаболізм, нейтрофіли, алопеція, діти.

Вступ. Впродовж останніх десятиліть людина інтенсивно втручалась у хімічні, біологічні та фізичні процеси глобального масштабу. Одним із безсумнівних результатів такого втручання стало антропогенне забруднення біосфери [8]. Слід зауважити, що антропогенне забруднення є лише одним із факторів, які впливають на якість здоров'я дітей. Вона визначається не лише несприятливими екологічними, але й економічними умовами, розвитком сільського господарства, умовами мешкання дітей, рівнем урбанізації, адже “міста орієнтовані на дорослих” [3].

У медичній літературі широко обговорюються різноманітні механізми пошкоджуючої дії ксенобіотиків. Так, поряд з відомою теорією пошкоджуючої дії токсичних речовин після досягнення та перевищення гранично допустимих концентрацій вивчається вплив тривалої дії невеликих (допорогових) доз ксенобіотиків та радіації, проводяться обчислення інтегрального коефіцієнта забруднення металами чи радіонуклідами [15]. Активно обговорюється модель лінійної допорогової дії малих доз, тобто констатується, що небезпечні всі дози, але в першу чергу для дітей з груп ризику, у яких може виникнути екологічно детермінована патологія. Синдроми цієї патології у дітей носять неспецифічний характер: гіперчутливість, нейровегетативні

порушення, зниження резистентності до інфекцій, прояв спадкової схильності до різних хвороб [3].

Саме з цих позицій привертає увагу унікальне захворювання невідомої етіології, яке мало місце в м. Чернівці у 1988 році та супроводжувалось синдромами гострої дифузної алопеції, катаром дихальних шляхів та/або бронхообструкцією, психоневрологічними зрушеннями.

Розрізненість досліджень, не завжди повна зіставленість отриманих даних, а також можливий “ефект запізнення” впливу факторів навколишнього середовища на організм дітей істотно ускладнили ідентифікацію причин виникнення цього захворювання.

Відповідно до висновків вітчизняних та зарубіжних експертів захворювання визнано екообумовленим. Найбільш вірогідною причиною його виникнення вважається версія впливу на організм дітей комплексу хімічних речовин. Клінічні прояви хвороби нагадують отруєння талієм або солями важких металів із його домішкою [11,16]. Дослідження, проведені окремими авторами, не виключають вплив несприятливих екофакторів і на інших дітей, які на той час проживали у місті [5, 6].

Після свого виникнення захворювання залишило ряд невирішених питань. Одним з найбільш соціально значимих – питання тотожності цього захворювання та вогнищевої алопеції (ВА), випадки якої продовжують реєструватися у дітей міста.

На момент виникнення хвороби діти з вогнищевим та дифузним облисінням належали до однієї групи, однак клінічні дослідження, проведені О.К. Колосковою [7], дозволили розробити диференційно-діагностичну систему між вогнищевою алопецією та “хімічною екзогенною інтоксикацією” (“ХЕІ”) в період розгорнутої клініки “ХЕІ”, не вирішивши питання диференційного діагнозу в період наступного спостереження, коли виникають нові випадки ВА.

Крім того, невирішеним залишалось питання підвищеної схильності дітей, які перенесли “ХЕІ”, до розвитку хронічних інфекцій носоглотки, повторних респіраторних захворювань, незважаючи на активну тактику диспансерного спостереження. Це зумовлювало нераціональність терапії, яка коливалась від невиправдано великої кількості аденотонзилотомій до інтенсивної медикаментозної терапії.

Згідно даних літератури несприятливі умови навколишнього середовища впливають на механізми резистентності організму, і дитячого зокрема [10,12] Можна припустити, що найбільш чутливою у даному відношенні слід вважати функцію нейтрофілів, перш за все їх киснезалежний метаболізм.

Дійсно, у дітей, які перенесли “ХІА”, у 1988 році показники спонтанного НСТ-тесту були більш, ніж у 2 рази вищими за норму, а стимуляція нейтрофілів призводила до нижчої їх активації, ніж у здорових дітей. У дітей, які перенесли ВА спонтанна та стимульована активність нейтрофілів крові були нижчими, ніж у тих, які перенесли “хімічну екзогенну інтоксикацію”. Фагоцитарна активність нейтрофілів була достовірно нижчою за норму у дітей, які перенесли “хімічну екзогенну інтоксикацію”.

Мета дослідження. Удосконалити диференційний діагноз між “ХЕІ” та ВА в процесі катамнестичного спостереження. Визначити механізми

формування груп підвищеного ризику, вогнищ хронічної інфекції носоглотки у дітей, які перенесли “хімічну інтоксикаційну алопецію”.

Матеріали та методи. Проведено комплексне обстеження 103 дітей, серед них 75 перенесло так звану “хімічну екзогенну інтоксикацію”, 28 – вогнищеву алопецію. За віком, статтю, обтяженістю акушерського анамнезу, частотою випадків рахіту, анемії, хронічних розладів харчування групи були порівнювані.

Дітям обох груп проведено комплексне імунологічне обстеження з визначенням розеткоутворення лімфоцитів, рівня імуноглобулінів та компонентів системи комплементу. Крім того, дітям обстежених груп проведено дослідження функціонального стану та метаболізму нейтрофілів крові.

Киснезалежний метаболізм нейтрофілів крові оцінювали за НСТ-тестом, відновлення нітросинього тетразолію виконували за методом В.Н. Park et al.(1968) у модифікації А.Н. Маянського з співавт. (1977) [9], вираховуючи відсоток формазан-позитивних клітин та цитохімічний коефіцієнт (ЦХК) в умовних одиницях.

Для більш повної характеристики активності нейтрофілів крові за допомогою гістохімічних досліджень також визначали глікоген, фосфоліпіди та вільні аміногрупи білків, активність мієлопероксидази. Глікоген визначали в реакції ШИК (реактив Schiff + йодна кислота) за А. Шабадашем [14], вільні аміногрупи білків за методикою N. Itchikawa [13] з використанням нінгідрину, рівень фосфоліпідів визначали у специфічній реакції L. Baker [13] з кислим гематїном. Активність мієлопероксидази нейтрофілів вивчали за методикою Д. Квагліно [13].

У зв'язку з впливом несприятливих факторів на дитячу популяцію міста в 1988 році, з метою коректного порівняння отриманих даних проводилось обстеження двох контрольних груп в 1987 та 1993 роках.

Результати досліджень та їх обговорення. Виявлено, що у дітей, які перенесли “хімічну інтоксикаційну алопецію”, спонтанний НСТ-тест нейтрофілів дорівнював $38,3 \pm 2,1\%$ (ЦХК = 0,53 ум.од.), на відміну від $28,6 \pm 3,5\%$ (ЦХК = 0,38 ум. од.) у дітей, що перенесли вогнищеве облисіння. Хоча в групі дітей, які перенесли “ХЕІ”, показники активації киснезалежного метаболізму нейтрофілів вищі, однак відмінності між групами недостовірні (ХЕІ:ВА, $p > 0,05$). Порівняння з показниками спонтанного киснезалежного метаболізму здорових дітей, обстежених у 1987 році свідчить про достовірне підвищення активності у дітей обох груп порівняння. Порівняння з показниками спонтанного НСТ 1993 року у дітей, які перенесли “ХЕІ”, не виявив достовірних відхилень від норми, а у дітей з групи ВА базисна активність нейтрофілів крові була нижче норми 1993 року. Отже, зміни в спонтанному киснезалежному метаболізмі носять різнонаправлений характер у дітей обох груп, в порівнянні з даними здорових дітей 1993 року.

Як більш чутливий показник зміни активності нейтрофілів крові, досліджували резерв їх киснезалежного метаболізму, який вираховували як різницю показників стимульованого та спонтанного НСТ-тесту. Згідно з отриманими даними резерв киснезалежного метаболізму нейтрофілів був знижений у дітей в обох групах: різниця НСТ в групі “ХЕІ” дорівнювала (-)6,0%; в групі ВА – (+)2,4%; у здорових дітей – (+)24,0% за даними 1987 року, та (+)3,8% за даними 1993 року.

У 1993 році показник резерву киснезалежної мікробіцидності нейтрофілів крові у здорових дітей був достовірно нижчим, ніж у 1987 році ($p_{ТМФ}=0,02$), що може бути одним із підтверджень впливу несприятливих факторів навколишнього середовища на всю дитячу популяцію міста.

У зв'язку з тим, що дія різноманітних хімічних агентів, зокрема металів, може призвести до порушення структури білків клітини та збільшення кількості вільних аміногруп в них, їх просторової конфігурації [15], у дітей, які перенесли "хімічну екзогенну інтоксикацію" досліджували вільні аміногрупи білків нейтрофілів крові.

Виявилось, що в обох групах порівняння цей показник дещо вищий норми. Так, за даними цитохімічних коефіцієнтів він становив: у дітей з групи "ХЕІ" $1,11 \pm 0,13$ ум. од., у дітей з групи ВА $1,64 \pm 0,17$ ум. од. при нормі $0,91 \pm 0,05$ ум. од. (в обох групах відмінності від норми не достовірні). У цьому випадку мають місце якісні відмінності (за точним методом Фішера) між показниками у дітей, які перенесли "ХЕІ", проти тих, які хворіли на вогнищеве облісіння.

Зміни у вмісті вільних аміногруп білків нейтрофілів крові дітей були більш вираженими у дітей, які перенесли вогнищеве облісіння. Імовірно, це пов'язано з дією інших несприятливих факторів, а не тих, що викликали "хімічну інтоксикаційну алопецію", і вплив їх відбувався після 1988 року, що співпадає з думкою Д.Д. Зербіно (1993) про вплив несприятливих факторів навколишнього середовища на організм всієї дитячої популяції міста.

Мієлопероксидаза (МПО) нейтрофілів крові також є одним з компонентів оксидативного вибуху внаслідок активації нейтрофілів. За даними літератури, відмічене зниження її активності у шахтарів [1], та працівників хімічних підприємств [17], а також під дією пестицидів [18].

Цитохімічні коефіцієнти так характеризують середню активність мієлопероксидази: у дітей з групи "ХЕІ" ЦХК склав $2,25 \pm 0,13$ ум. од., у дітей групи ВА - $2,45 \pm 0,11$ ум. од. при нормі ЦХК = $2,58 \pm 0,05$ ум. од. При цьому мають місце відмінності у формі розподілу показників активності між групами порівняння за точним методом Фішера ($p_{ТМФ} < 0,018$), що, можливо, свідчить про більш значне пригнічення процесів активації метаболізму нейтрофільних гранулоцитів крові, у дітей які перенесли "ХЕІ".

Проведене обстеження визначило, що зміни функціонального стану та метаболічної активності нейтрофілів крові у дітей з груп порівняння в загальному носять однонаправлений характер. Це можна інтерпретувати як універсальну реакцію ефекторної ланки імунітету у відповідь на несприятливу дію екофакторів у 1988 році. Разом з тим, знайдено достовірні відмінності деяких показників функції нейтрофілів у дітей, які перенесли "хімічну екзогенну інтоксикацію", а саме: негативний резерв киснезалежного метаболізму за даними НСТ-тесту, якісні відмінності спонтанного та стимульованого НСТ-тесту, активності мієлопероксидази та вмісту вільних аміногруп білків нейтрофілів, які мають стійкий характер (співпадають із даними обстеження в 1988 році) і можуть свідчити про порушення киснезалежного метаболізму нейтрофілів крові. Вказані зміни можна інтерпретувати як стійкі мікропорушення нейтрофілів – "мікроаномалії" (за Ю.Є. Вельтищевим, 1991) [4].

Визначені відмінності дозволяють "хімічну інтоксикаційну" та вогнищеву алопеції розглядати як окремі захворювання та використовувати показни-

ки функціонального стану нейтрофілів як додатковий параклінічний критерій для диференційного діагнозу “ХІА” та ВА.

Кластерний аналіз клінічних, імунологічних, біохімічних показників дітей, які перенесли ВА та “ХЕІ” показав, що ці захворювання належать до різних кластерів.

Проаналізувавши функції нейтрофілів крові у дітей, які часто та тривало хворіли на ГРВІ та з хронічними аденотонзилітами, виявили, що тенденції основних груп порівняння зберігалися, незважаючи на соматичну патологію. Ними стали - високий рівень спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів крові, відмінності у стимульованому НСТ-тесті, нижчий рівень вільних аміногруп білків нейтрофілів крові у підгрупі дітей, які перенесли “ХЕІ” у порівнянні з тими, хто переніс ВА.

Таким чином, можна припустити, що не вогнища інфекції обумовили зміни функції нейтрофілів крові а, ймовірно, невідомий фактор, що призвів до виникнення “ХЕІ”. Із впливом цього фактора можна пов’язати ті імунологічні зміни, що призвели до формування вогнищ інфекції носоглотки у кожної другої дитини та частих гострих респіраторних вірусних інфекцій у 80% дітей. Це особливо слід підкреслити, оскільки у порівнянні з 1988 роком більшість дітей належала до старшої вікової групи.

Йдеться про присутність стійких змін у нейтрофілах незалежно від наявності вогнищ хронічної інфекції носоглотки та частих ГРВІ, так званих “мікроаномалій” імунітету за Ю.Є. Вельтищевим [2].

Виникнення захворювання на “хімічну екзогенну інтоксикацію” має відповідну залежність від мешкання дітей в певних зонах міста. Так, у старій частині міста проживало 37 дітей, або 49,3% обстежених дітей з групи “ХЕІ”. Крім того, були випадки мешкання дітей на одній вулиці, в сусідніх будинках, у зв’язку з чим нами виділено зони умовної концентрації випадків захворювань (надалі їх називали “плямами” “ХЕІ”, або зони “спалаху” “ХЕІ”).

Поділ на зони здійснено за мешканням на момент виникнення захворювання у 1988 році. Зони “спалаху” визначали як території, де виникало 3 та більше випадків захворювань на “ХЕІ” на невеликій площі (одна вулиця, сусідні квартали) - радіус ділянки 1,0-1,5 км. Таких зон було виділено 7. У “плямах” мешкало 37 дітей, що перенесли “ХІА” та 4 дитини, що перенесли вогнищеве облісіння.

Підгрупа дітей з діагнозом “ХЕІ”, що жили у “плямах”, зберігала всі основні тенденції загальної групи в показниках киснезалежного метаболізму нейтрофілів крові. Відмічені відмінності у розподілі (за ТМФ) у показниках спонтанного НСТ-тесту ($p_{ТМФ}=0,03$), стимульованого НСТ-тесту ($p_{ТМФ}=0,013$), вмісті фосфоліпідів ($p_{ТМФ} = 0,025$) нейтрофілів крові у порівнянні з груповими показниками можуть свідчити про дію в зонах “спалаху” “ХЕІ” невідомого чинника більш інтенсивно, що й зумовило відмінності розподілу серед групи дітей з “ХЕІ”.

Особливу увагу впродовж дослідження приділяли визначенню залежності між клінічними, імунологічними та біохімічними проявами у дітей, що перенесли “хімічну екзогенну інтоксикацію”, та їх мешканням у зонах забруднення важкими металами та радіонуклідами, визначали обумовленість “плям” особливостями тих дітей, що в них жили.

Виявилось, що у забруднених зонах вразливою ланкою був спонтанний киснезалежний метаболізм нейтрофілів крові, в той час як у дітей з “ХЕІ” більше постраждала відповідь на стимуляцію пірогеналом (за стимульованим НСТ-тестом). В той же час збереглися групові відмінності між показниками імунітету дітей, які перенесли “ХІА” та вогнищеве облісіння як у “чистих”, так і у “забруднених” зонах. Таким чином, зони забруднення ґрунтів міста металами та радіонуклідами були важливими факторами у формуванні імунологічних показників на час обстеження у 1992 році. Проте, імунологічні зміни, характерні для дітей з “хімічною інтоксикаційною алопецією”, що виникли у 1988 році та зберігались на час обстеження, обумовлені не цими факторами.

Висновки.

1. Зміни в нейтрофілах (негативний резерв киснезалежного метаболізму, якісні відмінності спонтанного та стимульованого НСТ-тесту, активності мієлопероксидази та вільних аміногруп білків) носять стійкий характер, тобто можуть вважатися “мікроаномаліями” імунітету.

2. Схильність дітей до розвитку вогнищ хронічної інфекції є вторинною щодо виникнення вказаних аномалій, ними обумовленою характеристикою. Концентрація випадків “ХЕІ” у “плямах”, більша вираженість змін нейтрофілів в них дозволяє стверджувати, що діти були “маргінальною групою”, групою ризику щодо дії несприятливих факторів, або ж дія фактора була більшою в “плямах”.

3. Обстеження дітей у зонах забруднення ґрунтів міста металами та радіонуклідами потребує подальшого уточнення для визначення їх впливу на стан здоров'я дітей міста.

Література. 1. *Базельюк Л.Т.* Цитохимические исследования эритроцитов и нейтрофилов периферической крови у шахтеров-угольщиков // Гигиена труда и профессиональные заболевания. - 1992. - № 5. - С.31-33. 2. *Вельтищев Ю.Е.* Взаимосвязь возрастных и наследственных факторов в проявлении иммунопатологических реакций у детей на химические агенты внешней среды // Медико-экологические проблемы охраны здоровья матери и ребенка: Материалы Всесоюз. науч.-практ. конференции с участием иностранных специалистов (Черновцы, 13-14 июня 1990). - Черновцы, 1991. - С.8-10. 3. *Вельтищев Ю.Е.* О стратегии и приоритетных направлениях в педиатрии // Российский вестник перинатологии и педиатрии - 1994. - № 1. - с.2-8. 4. *Вельтищев Ю. Е., Балева Л.С.* Влияние малых доз радиации на иммунную систему детского организма // Вопр. охраны материнства и детства. - 1991. - Т.36, № 12. - С.3-9. 5. *Глейзер В.М.* Клінічне значення реакцій еозинофілів крові у дітей з бронхообструктивним синдромом при ГРВІ в зоні екологічного неблагополуччя: Автореф. дис. ... канд. мед.наук. - Чернівці, 1993.- 22с. 6. *Зербино Д. Д., Резник Л.Н., Бабак И.Д.* Исследование химической болезни детей в Черновцах 1988-1989гг //Медико-экологические проблемы охраны здоровья матери и ребенка: Материалы Всесоюз. науч.-практ. конференции с участием зарубежных специалистов (Черновцы, 13-14 июня 1990). - Черновцы, 1991. - С.38-39. 7. *Колоскова О.К.* Клінічні прояви масового захворювання з синдромом гострої дифузної алопеції у дітей м.Чернівці: Автореф. дис. ... канд. мед.наук.- Чернівці, 1994.-27 с. 8. *Лебедев К.А., Понякина И.Д.* Оценка иммунного статуса человека при изменениях среды обитания (экологическая иммунология) // Физиология человека.- Т. 18, № 5.-1992.-С.72-83. 9. *Маянский А.Н., Виксман М.Е., Кошельников П.Н., Молчанова И.В.* Характеристика функциональной активности нейтрофилов крови человека с помощью реакции восстановления нитросинего тетразолия //Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 1977. - № 6. - С.108-111. 10. *Сидоренко Г.И., Кутепов Е. М., Гедымин М.Ю.* Методология изучения состояния здоровья населения в зависимости от качества окружающей среды //Вестн. АМН СССР.- 1991.- № 1. - С.15-18. 11. *Таточенко В. К., Кошель И.В., Самсыгина Г.А. и др.* Эпидемиологическая вспышка диффузной алопеции у детей //Педиатрия.- 1990.- № 12.- С.67-71. 12. *Тимофеев В.П., Семенова В.В.* Возрастной аспект в токсиколого-гигиенических исследованиях //Гигиена и санитария. - 1993. - № 7. - С.68-72. 13. *Хейхоу Ф.Г., Кваглино Д. Ж.* Гематологическая цитохимия. - М.: Медицина. - 1983. - С.47-50, 65-70, 81-100. 14. *Шабаташ А.Л.* Проблемы гистохимического исследования гликогена нормальной нервной системы. Опыт характеристики биологических свойств и различий нейронов. - М.: Медгиз, 1949.- 324с. 15. *Fairchild E.J.* Concept

of effects of combined exposures to chemicals, in Health effects of combined exposures to chemicals in work and community environments //WHO. - Copenhagen, 1983. - P.15-43. 16. *Feldman J., Levisohn D.R.* Acute alopecia: clue to thallium toxicity //Pediatr. Dermatol.- 1993.- Vol.10, N 1.- P.29-31. 17. *Sliwinski Z., Hermanowicz A., Kossman S., Hrycek A.* Neutrophil function in chemical plant workers employed in the production of dust pesticides // Pol. G. Occup. Med. - 1991. - Vol. 4, N 3. - P.241-247. 18. *Tsvetkova T., Andonova S., Zvetkova E., Blagoeva S.* Aspects of granulocyte functions in workers professionally exposed to pesticides // Int. Arch. Occup. Environ Health.- 1992.- Vol.64, N 4. - P.275-279.

THE STATE OF OXYGEN-DEPENDENT METABOLISM OF BLOOD NEUTROPHILS IN CHILDREN WHO SUFFERED FROM “CHEMICAL EXOGENOUS INTOXICATION”

M.I.Polishchuk, L.V.Koliubakina, S.A.Cherevko, I.M.Davidenko, N.M.Shevchuk

Abstract. A complex examination of 103 children has been carried out, 75 children being those who suffered from “chemical exogenous intoxication” and 28 with focal alopecia who fell ill in the city of Chernivtsi in 1988. The control group consisted of healthy children examined in 1987 and 1992 prior and after the onset of the “chemical disease”. All the children underwent a multimodality immunologic examination with the determination of the blood immunoglobulin level, the system of compliments, the functional state of the blood neutrophils based on the NBT-test, the level of the myeloperoxidase activity, glycogen content, protein and phospholipid aminogroups.

It has been detected that children who had suffered from “chemical exogenous intoxication” were characterized by a trustworthy lower reserve of oxygen-dependent metabolism of blood neutrophils, a reliably lower activity of myeloperoxidase, and the content of free aminogroups of blood neutrophil proteins in comparison with the mentioned indices in children who suffered from focal alopecia. The findings of the complex analysis allowed to consider these diseases as separate ones.

On examining the children who suffered from adenotonsillites and from the CTG group it was revealed that the basic indices of the comparison groups preserved, irrespective of somatic pathology.

Key words: “chemical exogenous intoxication”, oxygen-dependent metabolism, neutrophils, alopecia, children.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)
