02
69230
ЧИТ

На правах рукописи

РУДКОВСКАЯ Жанна Васильевна

Клинико-лабораторный мониторинг эффективности применения метода интервальной нормобарической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей

14.00.11. - Кожные и венерические болезни

14.00.36. - Аллергология и иммунология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва-2003 г.

бота выполнена в Российском государственном медицинском университете.

Научные руководители - доктор медицинских наук, профессор
Кулагин Валерий Иванович
доктор медицинских наук, профессор
Стенина Марина Александровна

Официальные оппоненты - доктор медицинских наук, профессор
Кочергин Николай Георгиевич
доктор медицинских наук, профессор
Семенков Виктор Фаддеевич

Ведущая организация: Российский Университет Дружбы Народов.

Защита состоится «___»_____
сертационного Совета К 208.07
ском университете по адресу: 1

С диссертацией можно ознако

Автореферат разослан «___»

330085

Ученый секретарь диссерт
Доктор медицинских наук

Общая характеристика работы

Актуальность темы

Псориаз относится к наиболее распространённым хроническим заболеваниям мультифакториальной природы. Актуальность проблемы псориаза обусловлена неуклонным ростом заболеваемости среди взрослых и детей, в том числе грудных и новорожденных (Мордовцев В.Н., 1995). Наряду с увеличением общего количества больных, отмечен рост тяжёлых, трудно поддающихся терапии форм - псориатического артрита, эритродермии, экссудативного псориаза (Cooper C., 1988, Amor B., 1995, Allexeeva L., 1994).

До настоящего времени не существует общепринятой концепции патогенеза псориаза, которая дала бы возможность объяснить в определённой последовательности накопленный фактический материал. Имеющиеся результаты свидетельствуют о значении изменений функционального состояния печени, нервной, эндокринной систем, иммунной систем и других органов и систем в развитии заболевания (Bos J.D., 1998, Boisson-Legendre N., 2000).

Имеются работы, посвященные анализу колонизации кожи токсигенными штаммами микроорганизмов. В то же время в литературе существует точка зрения о том, что кишечник, при нарушении его барьерной функции, может становиться источником мощного деструктивного токсико-инфекционного воздействия на макроорганизм, поставляющим в кровь и органы вирусы, бактерии, чужеродные белки, а также суперантигены (Marks J., 1972, Marks J., 1970, Воеводин Д.А., Розанова Н.Г., Стенина М.А., 2001).

В литературе суперантигены рассматривают в роли неспецифических триггеров иммунологических процессов, способствующих через активацию цитокинового каскада развитию в коже воспалительной реакции и пролиферации кератиноцитов (Valdimarsson H., 1995, Baker B.S., 1993, Talanin N.Y., 1997, Leung D.Y.M., 1993, Teranishi J., 1995).

Таким образом, большой интерес представляет вопрос о связи барьерной функции кишечника с состоянием иммунной системы и поражением кожи при псориазе у детей.

Наряду с патогенетическими аспектами наиболее остро перед дерматологами стоит проблема терапии и профилактики рецидивов псориаза в детском возрасте.

[illegible]

Огромный арсенал медикаментозных средств и методов лечения значительно повысил терапевтические возможности. Вместе с тем учитывая детскую реактивность его несовершенством адаптационно-регуляторных механизмов при сохранности функциональных резервов организма, побуждает поиск новых нетрадиционных, в том числе немедикаментозных методов лечения. Одним из таких высокоэффективных, немедикаментозных методов лечения является интервальная нормобарическая гипоксия, направленная, в частности, на компенсацию гипоксии, лежащую в основе многих хронических заболеваний и усугубляющую их течение.

По данным литературы терапевтическая эффективность интервальной нормобарической гипоксии обусловлена за счет активации деятельности нейрогуморальных регуляторных систем, систем антирадикальной защиты и многих других (Меерсон Ф.З., 1989, Стрелков Р.Б., 1985).

В доступной нам литературе мы не встретили работ, посвященных изучению применения метода интервальной нормобарической гипоксии при псориазе у детей.

В ряду факторов, способствующих нарушению барьерной функции кишечника, его гипоксия занимает ведущее место наряду с избыточным ростом условно-патогенной микрофлоры, гиповолемией, белково-калорийной недостаточностью, действием некоторых лекарственных средств (Hecht G.A., 1994).

В свете таких представлений, исследование барьерной функции кишечника у детей больных псориазом, намечает новый аспект проблемы его патогенеза и лечения с учетом основного патогенетического звена патологии, что и побудило нас к проведению настоящей работы и обусловило ее цель.

Цель и задачи исследования:

Оценить эффективность метода интервальной нормобарической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей и разработать объективные показания к применению, с учетом роли в патогенезе заболевания барьерной функции кишечника и сопутствующей ей изменений иммунной системы.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1.Изучить проницаемость лимфоэпителиального барьера кишечной стенки и оценить роль ее нарушений в патогенезе псориаза у детей.

2.Оценить дисбиоз кишечника как один из факторов, предрасполагающего к нарушению барьерной функции кишечной стенки и формированию хронического очага системного воздействия на организм.

3.Отработать принцип регистрации ответа иммунной системы на изменение проницаемости лимфоэпителиального барьера кишечной стенки методом проточной цитометрии с использованием оптимального набора моноклональных антител.

4.Сопоставить клинические особенности течения дерматоза с уровнем проницаемости кишечника для макромолекул в процессе гипокситерапии.

5.Проанализировать собственный клинический опыт применения интервальной нормобарической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей и выработать объективные показатели эффективности лечения и показаний к применению.

Научная новизна

У детей больных вульгарной формой псориаза обоснована целесообразность выделения в прогрессирующей стадии острого и подострого течения заболевания.

Впервые в отечественной дерматологии у детей больных псориазом изучили состояние проницаемости лимфоэпителиального барьера кишечника с учетом клинических особенностей течения дерматоза. Такое исследование стало возможным благодаря впервые примененной в дерматологии методике, позволяющей количественно оценить кишечную проницаемость по поступлению в кровь пищевого белка овальбумина (ОВА). Нарушение барьерной функции кишечника влечет за собой неспецифическую активацию иммунной системы, которая, вносит определенный вклад в формирование кожного поражения при псориазе у детей.

В работе представлен принципиально новый подход к совершенствованию терапии псориаза у детей с применением немедикаментозного метода лечения, направленного на адаптацию организма ребенка к гипоксии. Патогенетически обоснована целесообразность применения метода интервальной нормобарической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. *При псориазе у детей имеет место нарушение барьерной функции лим*фоэпителиального барьера кишечника, что влечет за собой неспецифическую активацию иммунной системы, которая, вносит определенный вклад в формирование кожного поражения при псориазе у детей.
2. Обоснована целесообразность применения метода интервальной нормо*барической гипоксии в комплексном лечении псориаза у детей с учетом* клинических особенностей течения дерматоза и доказана ее высокая терапевтическая эффективность.

Практическая значимость

Исследование проницаемости лимфоэпителиального барьера кишечника *и сопутствующей ей активации иммунной системы важно с целью оценки* терапии, прогноза, а также дифференцированного назначения терапии.

Разработаны показания к проведению интервальной нормобарической гипокситерапии в комплексном лечении псориаза у детей.

Применение интервальной нормобарической гипокситерапии в ком*плексном лечении псориаза значительно повышает эффективность проводи*мой терапии и продолжительность клинической ремиссии в 2,7 раза.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на 5 симпозиуме – новое в дермато-венерологии, андрологии, гинекологии. Наука и практика, Россий*ской медицинской академии последипломного образования (Москва,2001г.)*; на заседании кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета РГМУ (Москва, 2002г.); на научно-практической конференции детской инфекционной больнице №8 г. Москвы, 2002г., 2003 г.

Внедрения

*Предложенный метод лечения и оценка проницаемости лимфоэпители*ального барьера кишечника при псориазе у детей, внедрены в клиническую практику работы кафедры кожных и венерических болезней лечебного факультета РГМУ и детской инфекционной больницы №8 г. Москвы.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, главы описания материалов и методов исследования, 2-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 238 источников, из которых 148 опубликованы в отечественной литературе и 90 в зарубежной печати. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 14 рисунками.

Содержание работы

Материалы, методы исследований и лечения

В основу работы положены результаты наблюдения 82 детей больных вульгарной формой псориаза в возрасте от 4 до 14 лет, находившихся на стационарном лечении в детской клинической инфекционной больнице №8.

Больным проводили общеклиническое обследование, включавшее осмотр, общий анализ крови, мочи и биохимический анализ крови. При необходимости проводили ультразвуковую диагностику, а также консультировали смежными специалистами (ЛОР-врачем, терапевтом, гастро-энтерологом).

Тяжесть кожного процесса определяли по показателю PASI (Psoriatic area and severiti index) – T. Fredricsson, U. Petersson (1978).

Условно была использована следующая градация тяжести псориаза:
1) легкое течение (Pasi < 10 баллов); 2) средней тяжести (10 $\leq$ Pasi < 16);
3) тяжелое (Pasi $\geq$ 16 баллов).

Комплекс лабораторных методов исследования:

Для оценки состояния лимфоэпителиального барьера использовали методику, разработанную в лаборотории физиологии и биохимии пищеварения *НИИ питания РАМН (И.В. Гмошинский, В.К. Мазо). Проницаемость кишечного* барьера для макромолекул оценивали по величине поступления в кровь куриного белка овальбумина (ОВА). Пищевой белок в сыворотках определяли с помощью твердофазного двухвалентного иммуноферментного метода («Sandwich-ELISA»). Оценку лимфоэпителиального барьера проводили дважды, до нагрузки (с целью оценки базального уровня ОВА) и через три часа после пищевой нагрузки белком свежих, сырых диетических яиц.

Определенную косвенную информацию о состоянии проницаемости лимфоэпителиального барьера мы получили, анализируя данные о наличии в сыворотке крови детей больных псориазом специфических антител класса IgG к пищевым белкам (глютену и овальбумину). Оценку производили с помощью непрямого твердофазного иммуноферментного теста (стандартного «ELISA") по методике, разработанной в ЦНИИ пищевой промышленности.

В комплекс лабораторных методов также были включены анализ фекалий на дисбиоз кишечника (Р.В. Эпштейн-Литвак, Ф.Л. Вильшанская 1967), а также непрямая иммунофлюоресценция окрашенного антителами осадка клеток мочи на наличие антигенов вирусов в норме обитающих в кишечнике.

Оценку сопутствующей реакции иммунной системы на изменение проницаемости лимфоэпителиального барьера кишечной стенки проводили методом проточной цитометрии клеток крови с использованием моноклональных антител против CD-14; HLA-DR; CD-16 антигенов. Такой выбор антител позволяет оценить количество клеток, экспрессирующих рецепторы для бактериальных липополисахаридов, активированных клеток и естественных киллеров, непосредственно осуществляющих эффекторные реакции иммунной системы. Экспрессию CD-14; HLA-DR; CD-16 антигенов определяли на лимфоцитах и моноцитах крови.

Методика проводимого лечения:

По характеру проводимой терапии дети были распределены на 2 группы: Основная группа - пациенты, получавшие помимо общепринятой терапии, курс интервальной нормобарической гипоксии (33 человека) и группа сравнения - пациенты получавшие только общепринятую терапию (29 человек). Группы были сформированы с учетом требования их однородности по определённым признакам: полу, возрасту, тяжести заболевания, сопутствующей соматической патологии и давности заболевания.

Традиционное лечение больных включало прием витаминов, препаратов кальция, седативных, десенсибилизирующих средств, средств корригирующих функцию желудочно-кишечного тракта. Наружно применяли: 1-2% салициловую мазь, крем Унна.

При проведении сеансов интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНГ) дети дышали гипоксической газовой смесью (ГГС) с концентраци-

ей кислорода 11-12% (парциальное давление кислорода составляло 74-76 мм. рт. ст.). *Один цикл состоял из дыхания ГТС в течение 5 минут с последующим* 2-х минутным дыханием атмосферным воздухом. Один сеанс состоял из 5 циклов. Первый курс состоял из 10 сеансов, при частоте воздействия 5 раз в неделю. Повторный курс через 2-3 месяца, при которых число сеансов увеличивали до 15. Число курсов в году, до четырех.

Эффективность терапии оценивали на основании изучения динамики изменения клинических проявлений заболевания и лабораторных показателей, отражающих состояние лимфоэпителиального барьера кишечника и сопутствующей ему изменений иммунной системы.

Клинические проявления дерматоза оценивали до лечения, к концу первой и третьей неделям стационарного лечения и на пятой неделе после выписки из стационара на основании: а) субъективных ощущений б) выраженности основных клинических симптомов в баллах в) динамики индекса Pasi выраженного *в процентах, для чего вычисляли коэффициент (К), как отношение* индекса Pasi к концу первой, третьей и пятой неделям к его исходному уровню (K_{1-0}; K_{3-0}; K_{5-0}).

Результаты терапии на разных этапах лечения расценивали как: клиническую ремиссию (отсутствие клинической симптоматики); значительное улучшение ($K \leq 25\%$); улучшение ($25\% < K \leq 50\%$); незначительное улучшение ($50\% < K \leq 75\%$); отсутствие значимого эффекта ($75\% < K \leq 100\%$); ухудшение ($100\% < K \leq 125\%$); значительное ухудшение ($K > 125\%$).

Анализ полученных результатов проводили с помощью пакета программ STATISTICA v. 5.5. с использованием методов вариационной статистики и непараметрических методов анализа.

Клиническая характеристика больных.

Анализ нашей выборки больных по полу и возрасту показал преобладание *детей в возрасте от 7 до 11 лет. Основную часть (60,9%) составили мальчики.*

Распределение больных в зависимости от тяжести дерматоза с учетом стадии и давности заболевания показало, что распространенные формы дерматоза превалировали над ограниченными формами заболевания. Процесс находился в прогрессирующей стадии у 75,6% больных и в стационарной стади-

ях у 24,4% детей. Давность дерматоза варьировала от 3-х недель до 9-ти лет. Средний показатель давности дерматоза составил 2 года.

Анализ частоты встречаемости сопутствующей соматической патологии показал, что основная часть её приходится на ЛОР-органы и желудочно-кишечный тракт вне зависимости от давности дерматоза (менее и более 2-х лет). Среди заболеваний ЛОР-органов наиболее часто встречался хронический тонзиллит (68,2%), а среди заболеваний желудочно-кишечного тракта - дискинезия желчевыводящих путей (71,9%). Заболевания эндокринной системы и отягощенный аллергоанамнез в виде бронхиальной астмы выявлены только у длительно болеющих детей.

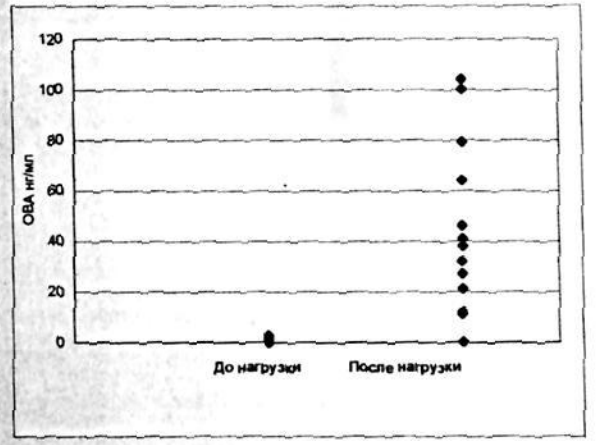
Факторы, способствующие развитию псориаза удалось выявить у 48% детей. Наиболее часто дерматозу предшествовали острые респираторные заболевания у 14,6% детей, наряду с наследственной отягощенностью у 14,6%.

Результаты собственных исследований и их обсуждение.

1. Барьерная функция кишечника при псориазе у детей.

а) Проницаемость кишечника для макромолекул в общей группе больных (без учета клинических особенностей течения дерматоза).

Рис. 1. Уровни регистрируемых величин сывороточного ОВА в общей группе больных.



В группе, сформированной без учета стадии и тяжести заболевания количество сывороточного ОВА до пищевой нагрузки колебалось в узком интервале значений от 0 до 3 нг/мл. У тех же самых детей через 3 часа после приема белков куриного яйца максимальный уровень ОВА составил уже 104 нг/мл (рис.1.). Согласно критерию знаков увеличение содержания ОВА в сыворотке по сравнению с его базальным уровнем было статистически значимо ($p \leq 0,05$).

Достоверное различие средних концентраций сывороточного ОВА до (1,2±0,4 нг/мл) и после нагрузки (15,5±9,4 нг/мл), свидетельствует о наличии «утечки» макромолекул из кишечника в кровь у детей больных псориазом.

б) Проницаемость кишечника для макромолекул в зависимости от стадии дерматоза.

Сравнение различий средних концентраций сывороточного ОВА у больных распределенных с учетом стадии заболевания приводит к выводу, что прогрессирующая стадия псориаза ассоциирована с высоким уровнем «утечки» ОВА из кишечника (35,4±24,0 нг/мл), по сравнению со стационарной (3,4±1,8 нг/мл) стадией. Этот вывод подтверждает и результат корреляционного анализа, показавшего, что количество ОВА достоверно снижается по мере перехода прогрессирующей стадии в стадию стабилизации процесса ($r=0,7$; $p \leq 0,0002$).

в) Проницаемость кишечника для макромолекул в зависимости от давности дерматоза.

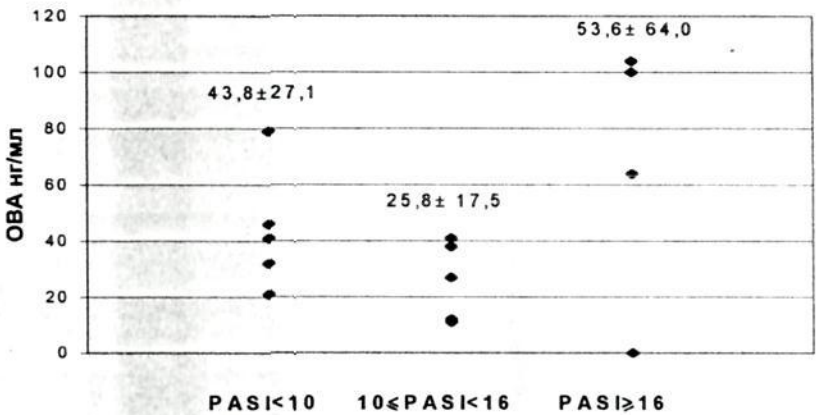
В общей группе, без учета стадии заболевания, не обнаружено корреляции уровня проницаемости ОВА от давности дерматоза. Эта зависимость обнаружена у больных, находившихся на момент обследования в прогрессирующей стадии ($r=0,83$, $p \leq 0,02$). Зависимость носила нелинейный характер. Согласно подобранной для нее регрессионной модели "утечка" ОВА резко возрастает в период от одного до четырех месяцев после манифестации псориаза. При дальнейшем увеличении длительности заболевания «утечка» ОВА меняется незначительно.

г) Проницаемость кишечника для макромолекул в зависимости от тяжести течения дерматоза.

При сопоставлении клинической тяжести дерматоза с уровнем проницаемости ОВА из кишечника не обнаружено достоверной корреляции. К подобному выводу пришли и другие авторы, использовавшие сахара в качестве маркеров проницаемости кишечника при псориазе и экземе (Hamilton I., Fairris G.M., Rothwell J. 1988).

Мы полагаем, что отмеченное у части детей сочетание высоких значений ОВА (>20 нг/мл) с легким течением дерматоза (рис.2) обусловлено опережающими сдвигами лабораторных показателей по сравнению с динамикой формирования кожного поражения.

Рис. 2. Регистрируемые уровни ОВА в зависимости от тяжести течения дерматоза



д) Косвенная оценка состояния лимфоэпителиального барьера кишечника у детей больных псориазом.

Анализ сывороток крови 20 детей находившихся в стационарной стадии заболевания, на наличие специфических антител класса IgG к пищевым белкам (глютену и овальбумину), выявил антитела у 7 обследуемых (35%),

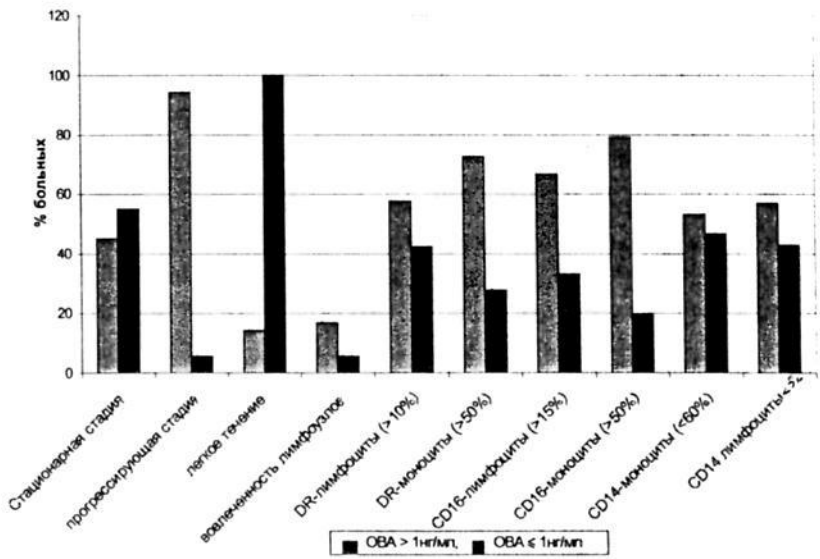
причем уровни антител в диагностически значимых титрах к глютену были выявлены у 3 пациентов (15%), к овальбумину у 2 (10 %) детей.

2. Проницаемость кишечника и сопутствующие ей изменения иммунной системы.

а) Анализ клинико-иммунологических проявлений псориаза в зависимости от наличия или отсутствия лабораторных признаков нарушения барьерной функции кишечника.

Для дальнейшего анализа мы распределили детей на две подгруппы согласно величине ОВА. В первой подгруппе лабораторные признаки нарушения барьерной функции кишечника были выражены (ОВА > 1 нг/мл), а во второй подгруппе они отсутствовали (ОВА ≤ 1 нг/мл).

Рис. 3. Исходные данные клинико-лабораторных проявлений у детей больных псориазом, в зависимости от уровня ОВА



На рис.3, приведены данные, которые позволяют сравнить выраженность клинико-иммунологических проявлений дерматоза в подгруппах сформированных с учетом уровня ОВА. В первой подгруппе у 72,5% детей доля DR-