

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО МІКРОЕЛЕКТРОФОРЕЗУ В ОЦІНЦІ РІВНЯ ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

Цодікова О.А.

Харківська медична академія післядипломної освіти

Дослідженнями останніх років встановлено, що букальні епітеліоцити (БЕ), як і усі епітеліальні клітини слизових оболонок, займають активну позицію в системі гуморально-клітинного гомеостазу [1, 3]. За набором функціональних, морфологічних, цитобіофізичних показників БЕ є найдоступнішою для аналізу категорією клітин. Відомо, що мутагени навколишнього середовища у першу чергу ушкоджують спадковий апарат соматичних і статевих клітин, тим самим вчиняючи запуск механізмів багатьох хвороб. Тому вивчення змін у клітинах на генетичному рівні важливо як для скринінгу контингенту екологічного ризику, так і для своєчасної верифікації донозологічних станів [2].

На кафедрі генетики і цитології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна під керівництвом професора В.Г. Шахбазова у 1985 р. був розроблений експрес-метод визначення біологічного віку (БВ) і стану здоров'я людини за змінами показника електрокінетичного потенціалу ядер (відсотку електронегативних ядер - ЕНЯ %) нативних епітеліальних клітин [4]. На основі багаторічних досліджень була встановлена середньостатистична вікова крива ЕНЯ % людини (рис. 1), за якою визначається рівень відхилення енергетичного стану пацієнта від норми.

Було встановлено, що електричний заряд ядер має важливе значення у реакції клітин і всього організму на дію різних чинників як екзогенних, так і ендогенних. При дослідженні електрокінетичних властивостей ядер клітин людини за допомогою метода внутрішньоклітинного мікроско-

лектрофорезу показано, що величина заряду ядра пов'язана з рівнем енергетики організму.

Для аналізу необхідні: мікроскоп типу МБД; прилад для внутрішньоклітинного мікроскопфорезу "Потенціал" (або "Біотест-1", "Біотест-М"); тупі шпатель для взяття проби клітин; покривні скельця (20 мм x 20 мм), фільтрувальний папір; препарувальна голка; чашка Петрі; фосфатний буфер (рН 7,00 або відстояна водопровідна вода).

Шпателем беруть пробу клітин з внутрішнього боку шоки. Далі клітини переносять зі шпателя на покривне скло, за допомогою препарувальної голки розподіляють їх на поверхні скла для одержання одношарового мазка клітин, потім у препарат додають одну краплю фосфатного буфера і накривають його другим покривним склом. Одержаний препарат можна негайно досліджувати в камері для мікроскопфорезу або при необхідності зберігати у термостаті при температурі 370°C у чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері.

В чашках Петрі препарати можна транспортувати від місця одержання проби до лабораторії. Далі препарат вміщують в камеру для внутрішньоклітинного мікроскопфорезу і закріплюють її на предметному столику мікроскопа. При збільшенні мікроскопа (x 80) відбирають поля зору для обліку клітинних ядер, переводять мікроскоп на збільшення (x 400) і вмикають прилад. Режим $0,1 \pm 0,01 \text{ mA}$ одержують при напрузі 20-30 В. Змінюючи полярність електродів перемиканням тумблера, досліджують електрофоретичну рухомість ядер. Ураховують непошкоджені клітини з ядрами округлої форми. У кожному полі зору відмічають ядра, які зміщуються під впливом струму до анода, а також нерухомі ядра.

Методика Шахбазова має широке застосування у медичній практиці для визначення біологічного віку і стану здоров'я людини, стомлюваності та впливу факторів довкілля, тяжкості патології і її динаміки у процесі лікування [6]. Метод Шахбазова дозволяє скоротити час обстеження пацієнтів, не потребує складного обладнання. Аналіз однієї проби займає 5 хв. Забір проб клітин є безболісним, безкровним, неінва-

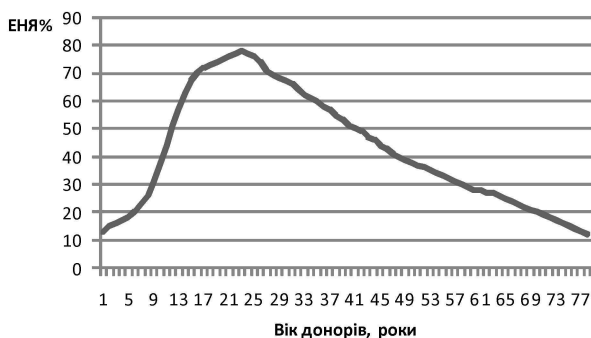


Рисунок 1
Еталонна крива для визначення біологічного віку людини

живним. Достовірність способу - 97 %. Клітини досліджуються у нативному стані, вони не фіксуються і не фарбуються.

Даних літератури про застосування електрокінетичного потенціалу ядер соматичних клітин у скринінгу стану здоров'я дітей та підлітків на індивідуальному та популяційному рівні вкрай мало [7, 8]. На кафедрі поліклінічної педіатрії Харківської медичної академії післядипломної освіти було обстежено 650 дітей та підлітків Харківського регіону віком від 2 до 17 років та вперше встановлена залежність між ЕНЯ % БЕ і станом здоров'я дитини. Вперше був проведений центильний розподіл показників ЕНЯ % у різних вікових групах, встановлені вікові нормативи, а також виділено контингент ризику хронічної патології (табл.) [5].

Оцінку стану індивідуального здоров'я осіб за показниками енергетичного потенціалу проводять шляхом порівняння одержаних показників ЕНЯ % зі значенням центильних шкал оцінки цитобіофізичних характеристик букального епітелію та визначають категорію, до якої належить обстежена дитина.

Дітей та підлітків з показниками ЕНЯ %, що знаходяться у межах 25-75 центилей, ("здоров'я") - відносять до I категорії, показники у межах 10-25 та 75-90 ("передхвороба") - відносять до II категорії, у діапазоні від 0 до 10 та від 90 до 100 - до III категорії ("хвороба").

Діти та підлітки, яких відносять до II та III категорій, підлягають поглибленому медичному огляду і проведенню комплексу відповідних ліку-

вальних та реабілітаційних заходів.

Втім, даних літератури про закономірності біоенергетичних процесів у дітей з порушеннями неспецифічної резистентності організму ми не знайшли. Викладене вище визначило напрямок і мету дослідження.

Мета дослідження

Оцінити стан здоров'я дітей та підлітків - мешканців м. Харкова за групами здоров'я та визначити фізіологічні закономірності біоенергетичних процесів, що характеризують електрокінетичний потенціал соматичних клітин, з урахуванням рівня неспецифічної резистентності організму.

Матеріали і методи. До дослідження залучено 361 дитину віком 3-14 років (188 хлопчиків і 173 дівчинки), що часто хворіла (ЧХД) на гострі респіраторні захворювання (ГРЗ) - основна група, 241 дитина відповідного віку (118 хлопчиків і 123 дівчинки), яка епізодично хворіла (ЕХД) на ГРЗ - група порівняння. Верифікацію належності дитини до категорії ЧХД проводили згідно з критеріями, запропонованими В.Ю.Альбицьким (2003). Обстежували дітей у періоді клініко-лабораторної ремісії.

Функціональний стан організму на клітинному рівні - біологічний вік (БВ) оцінювали за допомогою цитобіофізичних показників соматичних клітин (метод В.Г. Шахбазова) [4]. Одержані результати статистично опрацьовували. Для оцінки вірогідності різниці середніх значень показників застосовано критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення.

Розподіл дітей за групами здоров'я показав, що з нормальним розвитком та нормальним рівнем функцій організму (I група здоров'я) було 115 дітей (19,1 %). Функціональні та деякі морфологічні відхилення (II група здоров'я) зареєстровані у 270 дітей (44,9 %). Хронічні захворювання у стані субкомпенсації зі збереженням функціональних можливостей (III група здоров'я) зафіксовані у 217 дітей (36,0 %).

При аналізі структури захворювань відповідно до МКХ-10 визначено, що серед усіх випадків захворювань провідне місце займають хвороби органів дихання (51,6 %) і хвороби органів травлення (32,2 %). Патологія шкіри і підшкірної основи складала 17,1 % випадків, хвороби системи кровообігу - 12,2 %, вроджені аномалії - 11,9 %, захворювання нервової системи і органів чуття - 9,8 %, хвороби сечостатевої системи 8,9 %, психічні розлади 6,4 %, хвороби кісток і сполучної тканини - 5,4 %. Слід додати, що більше половини захворювань різних

Таблиця
Центильні шкали для оцінки характеристик ЕНЯ %
букального епітелію дітей віком 2-17 років

Вік обстежуваних	Показник електронегативності ядер (ЕНЯ %)						
	ЦЕНТИЛИ						
	3	10	25	50	75	90	97
2 роки	3	6	7	8	9	10	12
3 роки	4	7	8	10	11	12	14
4 роки	5	9	10	12	13	15	16
5 років	8	10	12	14	16	17	19
6 років	10	12	15	17	18	20	25
7 років	12	14	18	22	24	28	32
8 років	19	23	25	27	29	34	36
9 років	21	24	30	35	39	43	47
10 років	32	36	40	42	44	47	50
11 років	36	40	52	54	57	59	61
12 років	50	54	56	58	59	63	65
13 років	53	56	58	60	63	65	67
14 років	53	56	58	60	63	65	67
15 років	56	58	61	63	64	67	69
16 років	58	60	63	65	67	70	72
17 років	60	62	64	68	69	73	75

класів (63,1 %) було діагностовано вперше при проведенні комплексного дослідження.

При клінічному дослідженні у кожній третій дитині основної групи відзначено наявність скарг щодо здоров'я, водночас загальне самопочуття дітей залишалось задовільним. Прояви вегетативної дисфункції виявлено у 57,8±2,5 % ЧХД (у групі ЕХД 24,1±2,0 %), симптомокомплекс неспецифічної хронічної інтоксикації - у 34,6±2,2 % (10,7±1,7 % у ЕХД), абдомінальний синдром - у 53,1±2,8 % (32,7±2,2 % у ЕХД), диспепсичні явища - у 59,2±2,6 % (39,4±2,3 % у ЕХД) ($p < 0,05$). Патологія з боку носоглотки, лімфаденопатії у ЧХД також реєструвалися частіше, ніж у групі порівняння.

Оцінка фізичного розвитку дітей показала, що серед ЧХД 2,8±0,9 % становили діти з високим та 10,5±1,6 % - вище середнього рівнем фізичного розвитку (серед ЕХД відповідно 5,4±1,5 % та 15,4±2,3 %) ($p < 0,05$). В основній групі частка дітей із середнім рівнем розвитку була меншою, ніж у групі порівняння: 59,0±2,6 % проти 68,5±3,0 %, а з рівнем фізичного розвитку нижче середнього (16,9±2,0 %) та низьким (10,8±2,6 %), - відповідно 8,2±1,8 % та 2,5±1,0 % в групі порівняння ($p < 0,05$). Серед 52,1±2,7 % ЧХД були розвинені гармонійно, а 47,9±2,7 % мали дисгармонійний розвиток (в групі ЕХД відповідно 73,9±3,0 % та 26,1±1,9 %) ($p < 0,05$). Серед дисгармонійно розвинених як в основній, так і у групі порівняння переважали діти з дефіцитом маси тіла.

Розмаїття скарг, функціональних та структурно-морфологічних порушень як ознака гетерогенності контингенту показало неможливість виявлення специфічних клінічних ознак окремо для II і III груп здоров'я. З метою виявлення преморбідних станів, а також встановлення взаємозв'язку між станом здоров'я, рівнем резистентності і групою здоров'я проведено скринінгове цитобіофізичне дослідження дітей з позицій оцінки функціонально-резервних можливостей організму.

Встановлено, що величина заряду ядра соматичної клітини (інтегральний показник біологічного віку) не стільки пов'язана з групою здоров'я, як з рівнем функціонального стану організму. Серед дітей I, II та III груп здоров'я, незалежно від рівня неспецифічної резистентності, зустрічаються особи з різними характеристиками біологічного віку (БВ): з відставанням, прискоренням і відповідністю паспортному. Втім, питома вага таких типів БВ у кожній групі здоров'я є неоднаковою. Кількість осіб з характеристиками ЕНЯ % БЕ, що вказують на відповідність біологічного віку (величини % ЕНЯ знаходяться

у межах 25-75 центилей), була найбільшою серед практично здорових дітей (70,2±4,3 % осіб I групи і 68,3±4,0 % дітей з епізодичною захворюваністю II групи здоров'я). Ці діти були віднесені до категорії "здоров'я". Знижені характеристики ЕНЯ % БЕ, як інтегральні показники "відставання" біологічного віку, зустрічалися у всіх групах здоров'я, але частіше - у дітей II і III групи здоров'я групи ЧХД (33,0±3,6 % і 44,8 ±3,6 %). "Прискорення" біологічного віку (підвищені показники енергопотенціалу клітин) також траплялося серед усіх груп здоров'я, але найменшою мірою - серед дітей I групи здоров'я (7,9±2,5 %), а найбільшою - у ЧХД III групи здоров'я (19,6±2,8 %).

Якщо значення % ЕНЯ БЕ знаходилися у діапазоні від 10 до 25 та від 75 до 90 центилей, ми розглядали їх як відхилення, що відповідають стану "передхвороби". Такі характеристики зареєстровано переважно у дітей I та II груп здоров'я. Показники % ЕНЯ у діапазоні від 0 до 10 та від 90 до 100 центилей зустрічалися серед дітей з клінічною симптоматикою, морфологічними порушеннями, зниженою резистентністю організму і були асоційовані з поняттям "хвороба" (переважно ЧХД III групи здоров'я).

Висновки

1. Електрокінетичний потенціал ядер соматичних клітин, який оцінюється за методикою внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу, знаходиться у прямій залежності від стану здоров'я дитини та рівня неспецифічної резистентності. Відхилення у показниках заряду ядра БЕ дітей свідчать про порушення здоров'я, а саме: функціональні розлади, органічну патологію, поліморбідні стани.

2. Цитобіофізичні показники букального епітелію відображають гетерогенність процесів енергетичного забезпечення організму дитини, що може бути використано як для ранньої діагностики донозологічних станів, так і визначення потреби у диференційованій корекції порушень.

3. За допомогою методу визначення ЕНЯ % БЕ запропоновано новий підхід до формування груп ризику хронічної патології та динамічного нагляду за дітьми диспансерної групи. Це дозволяє вдосконалити тактику надання первинної медико-санітарної допомоги дітям I, II та III груп здоров'я.

Узагальнюючи одержані нами дані, слід зазначити, що походження феномену негативного електрокінетичного потенціалу ядра БЕ залишається неясним, а питання про специфічність системи життєзабезпечення клітини - відкритим.

Ця обставина актуалізує перспективність вивчення патогенетичних механізмів хвороби на клітинному рівні з урахуванням молекулярних механізмів забезпечення енергетичного гомеостазу.

Література

1. Безруков Л.О., Богуцька Н.К., Коллюбакіна Л.В. та інші. Клініко - епідеміологічне значення мікроядерного тесту букального епітелію дітей дошкільного віку // Сб "Актуальні проблеми і напрями розвитку педіатрії на сучасному етапі". (Матеріали конгресу педіатрів України, Київ, 2003) С. 4-6.
2. Горюва А.И., Климкина И.И. Использование цитогенетического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами // Довкілля та здоров'я. 2002. №1. С. 47-50.
3. Лозовська Ю.В. Морфологічні особливості інтерфазних ядер букального епітелію у людей з дисгормональними порушеннями і загальносоматичною патологією, пов'язаною з інтоксикацією: Автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.11 / Київ. нац. ун-т. К., 2003. 18 с.
4. Патент № 28113 С 2 України. Спосіб експрес - тестування ефективності реабілітації здоров'я людини / Шахбазов В.Г., Колупаєва Т.В., Шувалова Л.М., Колмогоров В.М., Жукова Л.П.

- //Промислова власність України. 2000. №5. 1ч. С. 3. 1. 327.
5. Патент № 7296 України, Спосіб експрес-оцінки рівня соматичного здоров'я дітей / Цодікова О.А., Шахбазов В.Г., Колупаєва Т.В. Харківська медична академія післядипломної освіти - № 20041108884; Заявл. 01.11.2004; Опубл. 15.06.2005. Бюл. № 6.
 6. Тондий Л.Д., Цодікова О.А., Колупаєва Т.В. Оценка эффективности светолечения у часто болеющих детей с помощью методов цитобиофизики // Труды КГМУ им. С.И. Георгиевского "Проблемы, достижения и перспективы медико-биологических наук и практического здравоохранения". Симферополь. 2004. Т.140 (I). С. 122-125.
 7. Цодікова О.А., Рожнов А.А., Колупаєва Т.В. Внедрение цитобиофизического метода исследования в систему мониторинга состояния здоровья детского населения // Проблемы медицинской науки та освіти. 2004. №3. С. 85-87.
 8. Цодікова О.А., Колупаєва Т.В. Аналітична оцінка цитобіофізичних характеристик букального епітелію при прогнозуванні адаптаційних процесів у дітей // Медицина сьогодні і завтра. 2005. № 4. С. 72-75.
 9. Цодікова О.А. Цитологічні та цитобіофізичні характеристики букального епітелію дітей залежно від рівня резистентності та типу реакцій адаптації // В сб. Тр. ин-та гигиены и мед. экологии им. А. Н. Марзеева АМН Украины "Гигиена населенных мест". 2005. Вып. 45. С. 374-378.

Использование метода внутриклеточного микроэлектрофореза в оценке уровня здоровья детей и подростков / Цодікова О.А. // Медицина и... – 2008. – № 4. – С. 92-95.

Проведено центильне розподілення показателів електроотрицательності ядер букального епітелію в різних вікових групах і встановлено вікові нормативи для дітей 2-17 років. Електрокінетичний потенціал ядер соматических кліток знаходиться в прямій залежності від стану здоров'я ребенка і рівня неспецифічної резистентності організму. С допомогою методу внутриклеточного мікроелектрофореза пропонується новий підхід до формування груп ризику хронічної патології і динамічного нагляду за дітьми диспансерної групи.

Ключевые слова: здоров'я, діти та підлітки, букальний епітелій.

Використання методу внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу в оцінці рівня здоров'я дітей та підлітків / Цодікова О.А. // Медицина і... – 2008. – № 4. – С. 92-95.

Проведено центильний розподіл показників електронегативності ядер букального епітелію у різних вікових груп і встановлено вікові нормативи для дітей 2-17 років. Електрокінетичний потенціал ядер соматических кліток знаходиться у прямій залежності від стану здоров'я дитини і рівня неспецифічної резистентності організму. За допомогою методу внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу запропоновано новий підхід до формування груп ризику хронічної патології та динамічного нагляду за дітьми диспансерної групи.

Ключові слова: здоров'я, діти та підлітки, букальний епітелій.

Use of a method endocellular microelectrophoresis in an estimation of level of health of children and teenagers / Tsodikova O. A. // Medicine and... – 2008. – № 4. – P. 92-95

It is spent centile distribution of indicators of electronegativity of kernels bukkalium epithelium in different age groups and age specifications for children of 2-17 years are established. The electrokinetic potential of kernels of somatic cages is in direct dependence on a state of health of the child and level of not specific resistance of an organism. By means of a method endocellular microelectrophoresis it is offered the new approach to formation of groups of risk of a chronic pathology and dynamic supervision over children despanser groups.

Keywords: health, children and teenagers, bukkalium epithelium