



УДК 616.342-002.44/45-031.25-099-053.2

А.В. Налетов

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СИНДРОМА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,
83003, пр. Ильича, 16, тел. 8-(062)-344-40-01, e-mail: contact@dnmu.ru, г. Донецк*

Резюме

Целью данного исследования было изучение биохимических маркеров синдрома эндогенной интоксикации у детей с эрозивно-язвенными процессами слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, ассоциированными с персистенцией вирулентных штаммов *H. pylori*. Исследована концентрация молекул средней массы и липополисахарида грамотрицательных бактерий у детей в зависимости от тяжести хронической гастродуоденальной патологии, а также от инфицирования вирулентными штаммами *H. pylori*. Установлено, что эрозивно-язвенные заболевания у детей протекают на фоне развития синдрома эндогенной интоксикации, а инфицирование вирулентными штаммами *H. pylori* ассоциировано с более выраженной активацией эндотоксиновой агрессии и накоплением молекул средней массы в сыворотке крови данных пациентов.

Ключевые слова: липополисахарид грамотрицательных бактерий, дети, *H. pylori*, хроническая гастродуоденальная патология, синдром эндогенной интоксикации.

A.V. Nalyotov

BIOCHEMICAL MARKERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CHILDREN WITH EROSIVE AND ULCERATIVE DISEASES OF THE DUODENUM

Donetsk National Medical University named after M. Gorkiy, Donetsk

Summary

The purpose of this study was to determine the biochemical markers of endogenous intoxication syndrome in children with erosive and ulcerative processes of the duodenum associated with virulent strains of *H. pylori*. The concentration of medium-mass molecules and lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria were studied in children, depending on the severity of chronic gastroduodenal pathology, as well as on virulent strains of *H. pylori*. It has been established that erosive and ulcerative diseases in children occur at the background of the development of endogenous intoxication syndrome. The persistence of virulent strains of *H. pylori* is associated with activation of endotoxin aggression and the accumulation of medium-mass molecules in the serum of these patients.

Key words: lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria, children, *H. pylori*, chronic gastroduodenal pathology, endogenous intoxication syndrome.

На сегодняшний день инфекция *H. pylori* рассматривается как основная причина развития хронической гастродуоденальной патологии (ХГДП) и формирования наиболее тяжелых ее форм среди пациентов различных возрастных групп. Однако патогенетические аспекты эрозивно-язвенных заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта у детей на фоне персистенции *H. pylori* остаются не до конца изученными.

Установлено, что геном бактерии отличается вариабельностью, нестабильностью и способен с высокой

скоростью мутировать. Ряд генов бактерии продуцирует специфические белки, которые можно отнести к факторам патогенности. *H. pylori* имеет достаточно широкий набор данных факторов, большинство из которых хорошо адаптированы к условиям паразитирования микроорганизма в желудке, обеспечивают его выживание в кислой среде желудочного содержимого и колонизацию слизистой оболочки (СО). Наличие генов *sagA* и *vacA* в геноме *H. pylori* связывают с развитием наиболее тяжелых заболеваний

желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК): атрофический гастрит, язвенная болезнь (ЯБ), рак желудка [1, 6, 8]. Установлено, что у детей деструктивные процессы СО ДПК ассоциированы с персистенцией вирулентных штаммов *H. pylori*, имеющих генотип *cagA+vacAs1m1* [5].

В последние годы в качестве одного из патогенетических механизмов развития деструктивных процессов СО ДПК также рассматривается концепция истощения регуляторных механизмов иммунного ответа и биохимической защиты, вследствие повышенной иммунологической нагрузки на организм с развитием синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ), обусловленного появлением в тканях и биологических жидкостях эндогенных токсических субстанций (эндотоксинов), являющихся промежуточными либо конечными продуктами обмена [4]. Содержание молекул средней массы (МСМ) в сыворотке крови являются основным биохимическим маркером СЭИ и системного воспалительного ответа. Существенная особенность МСМ заключается в их отчетливо выраженной высокой биологической активности. Накопление МСМ не только является маркером эндотоксикоза, в дальнейшем они усугубляют течение патологического процесса, приобретая роль вторичных токсинов, оказывая влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. Одним из путей формирования СЭИ может являться усиленный рост условно-патогенной и патогенной флоры в кишечнике либо транслокация микроорганизмов в несвойственные им биотопы [3]. Хроническая персистенция *H. pylori* нарушает местный иммунитет и сопровождается разрушением микробиологического равновесия всего пищеварительного тракта. При избыточном росте грамотрицательных бактерий значительно возрастает концентрация эндотоксинов в просвете кишечника. Эндотоксины грамотрицательных бактерий – липополисахариды (ЛПС) относятся к высокотоксичным компонентам клеточной стенки микроорганизмов и являются самым активным из кишечных токсинов. ЛПС бактерий является своеобразным экзогормоном, который при концентрации от 0,1 до 1,0 ЕУ/мл в сыворотке крови выполняет адаптационную функцию, поддерживает в тонусе защитные механизмы врожденного иммунитета. При поступлении в системный кровоток в условиях патологии ЛПС являются мощным фактором, поддерживающим хронические воспалительные процессы в организме [2]. Эндотоксинемия сопровождается токсическим воздействием практически на все системы организма, вызывая развитие клеточной гипоксии с нарушением метаболических процессов, лизис лейкоцитов с выходом биологически активных веществ и развитием СЭИ, что в свою очередь приводит к повреждению кишечных барьеров и еще большее поступление ЛПС в portalный кровоток [7].

На сегодняшний день в литературе остается мало освещенным вопрос о связи развития СЭИ при персистенции вирулентных штаммов *H. pylori* у детей с деструктивными процессами СО ДПК.

Цель исследования – изучение биохимических показателей СЭИ у детей с эрозивно-язвенными процессами СО ДПК, ассоциированными с персистенцией вирулентных штаммов *H. pylori*.

Материалы и методы

Обследовано 60 детей в возрасте от 12 до 17 лет с эрозивно-язвенными заболеваниями ДПК, ассоциированными с *H. pylori*: 20 пациентов с ЯБ ДПК и 40 – с эрозивным бульбитом (ЭБ). При этом 32 (53,3±6,4 %) ребенка были инфицированы вирулентными штаммами *H. pylori* (генотип *cagA+vacAs1m1*) и составили 1-ю группу сравнения, у 28 (46,7±6,4 %) пациентов обнаружена персистенция штаммов *H. pylori* с менее вирулентным генотипом (2-я группа сравнения). В качестве группы контроля обследовано 20 здоровых детей.

Диагностика *H. pylori* проводилась быстрым уреазным тестом с биопсийным материалом с использованием тест-системы «Хелпил» (ООО «АМА», Россия) и уреазным дыхательным тестом с помощью тест-системы «Хелик» с индикаторными трубками (ООО «АМА», Россия). Генотипирование *H. pylori* осуществлялось в биоптате СО желудка методом полимеразной цепной реакции с использованием наборов реагентов «Хеликопол» («Литех», Россия).

Всем детям было проведено изучение концентрации ЛПС грамотрицательных бактерий с помощью адаптированного к клинике ЛАЛ-теста «E-toxate» («Sigma Chem. Co.», США).

Концентрацию МСМ определяли скрининговым методом по Н.Г. Габриелян и др. (1985). Суть метода заключается в регистрации спектрограммы супернатанта плазмы крови в монохроматическом световом потоке с длиной волны 254 (МСМ₂₅₄) – токсическая фракция и 280 нм (МСМ₂₈₀) – катаболическая фракция эндотоксинов. Измерения проводили на спектрофотометре «Genesis» 10 UV («Thermo Scientific Spectronic», США). Уровень фракций МСМ выражали в усл. ед. оптической плотности.

Анализ результатов исследования проводился в пакете MedStat (Ю.Е. Лях, В.Г. Гурьянов, 2004-2013). Для характеристики количественного показателя рассчитывалось среднее значение показателя ($\bar{X}$) и ошибка среднего (m), в случае качественных признаков рассчитывалась частота встречаемости (%) и ее стандартная ошибка ($m\%$). Для оценки значения показателя на генеральной совокупности рассчитывался его 95 % доверительный интервал (95 % ДИ). При проведении сравнений показателей в трех группах использовался дисперсионный анализ (в случае нормального закона распределения) или критерий Крускала-Уоллиса (в случае отклонения закона распределения от нормального) и методы множественных сравнений.

Результаты и обсуждение

При исследовании спектра МСМ у детей с эрозивно-язвенными процессами СО ДПК, выявлено увеличение концентрации токсического (МСМ₂₅₄) и катаболического (МСМ₂₈₀) пулов МСМ на фоне прогрессирования воспалительного процесса СО (табл. 1). Уровень значимости отличий между группами сравнения составил $p < 0,001$. У детей с ЯБ ДПК выявлены самые высокие значения концентрации МСМ₂₅₄ и МСМ₂₈₀ ($366,5 \pm 3,8$ усл. ед. и $272,0 \pm 2,5$ усл. ед., соответственно), которые статистически значимо ($p < 0,05$) превышали соответствующие показатели детей груп-

пы контроля ($237,8 \pm 2,6$ усл. ед. и $171,0 \pm 2,5$ усл. ед., соответственно) и пациентов с эрозивным воспалением СО ДПК. Среди пациентов с ЭБ уровень MCM_{254} и MCM_{280} ($334,5 \pm 3,8$ усл. ед. и $237,3 \pm 2,3$ усл. ед., соответственно) также был статистически значимо ($p < 0,05$) выше относительно детей группы контроля.

Таблица 1

Концентрации MCM_{254} и MCM_{280} среди обследованных пациентов в зависимости от тяжести деструктивного процесса в СО ДПК

Показатель	Среднее значение показателя, $\bar{X} \pm m$			Уровень значимости различия, p
	дети с ЯБ ДПК НР (+) (n=20)	дети с ЭБ НР (+) (n=40)	группа контроля (n=20)	
MCM_{254} , усл. ед.	$366,5 \pm 3,8^{1*}$	$334,5 \pm 3,0^{*2}$	$237,8 \pm 2,6^{1,2}$	$< 0,001$
MCM_{280} , усл. ед.	$272,0 \pm 2,5^{1*}$	$237,3 \pm 2,3^{*2}$	$171,0 \pm 2,5^{1,2}$	$< 0,001$

Примечание. * – отличие от детей группы контроля является статистически значимым ($p < 0,05$); ¹ – отличие от группы детей с ЭБ является статистически значимым ($p < 0,05$); ² – отличие от группы детей с ЯБ ДПК является статистически значимым ($p < 0,05$).

Выявлено влияние персистенции вирулентных штаммов *H. pylori*, имеющих генотип *cagA+vacAs1m1*, у детей с деструктивными процессами СО ДПК на накопление в сыворотке крови МСМ (табл. 2). Средние значения MCM_{254} и MCM_{280} у детей с персистенцией вирулентных штаммов *H. pylori* (группа 1) ($362,8 \pm 2,8$ усл. ед. и $262,2 \pm 2,9$ усл. ед., соответственно) были статистически значимо выше ($p < 0,05$) относительно пациентов, инфицированных менее вирулентными штаммами *H. pylori* (группа 2) ($325,0 \pm 2,2$ усл. ед. и $233,6 \pm 3,0$ усл. ед., соответственно) и детей группы контроля. Уровень значимости отличий между группами сравнения составил $p < 0,001$.

Таблица 2

Концентрации MCM_{254} и MCM_{280} среди пациентов с воспалительно-деструктивными процессами СО ДПК при инфицировании различными штаммами НР

Показатель	Среднее значение показателя, $\bar{X} \pm m$			Уровень значимости различия, p
	группа 1, (n=32)	группа 2, (n=28)	группа контроля (n=20)	
MCM_{254} , усл. ед.	$362,8 \pm 2,8^{*2}$	$325,0 \pm 2,2^{*1}$	$237,8 \pm 2,6^{1,2}$	$< 0,001$
MCM_{280} , усл. ед.	$262,2 \pm 2,9^{*2}$	$233,6 \pm 3,0^{*1}$	$171 \pm 2,5^{1,2}$	$< 0,001$

Примечание. * – отличие от группы контроля является статистически значимым ($p < 0,05$); ¹ – отличие от I группы пациентов является статистически значимым ($p < 0,05$); ² – отличие от II группы пациентов является статистически значимым ($p < 0,05$).

Установлено, что уровень системной эндотоксинемии также зависел от тяжести деструктивного процесса СО ДПК. Так, уровень ЛПС в обеих группах пациентов с эрозивно-язвенными процессами СО ДПК статистически значимо превышал ($p < 0,05$) данный

показатель группы здоровых детей ($0,52 \pm 0,04$ EU/мл). Уровень значимости различий между группами сравнения составил $p < 0,001$. Наиболее высокая концентрация ЛПС в сыворотке крови выявлена у детей с ЯБ ДПК – $2,1 \pm 0,1$ EU/мл. Среди пациентов с ЭБ данный показатель составил $1,9 \pm 0,1$ EU/мл. У всех детей группы контроля была установлена эндотоксинемия в пределах физиологической нормы, которая не превышала $1,0$ EU/мл. Физиологический уровень эндотоксинемии обнаружен лишь у 2 ($10,0 \pm 6,7$ %) пациентов с ЯБ ДПК и у 5 ($12,5 \pm 5,2$ %) детей с ЭБ.

При изучении влияния персистенции вирулентных штаммов *H. pylori* на состояние системной эндотоксинемии установлено, что у пациентов 1-й группы установлена более высокая концентрация ЛПС в сыворотке крови – $2,3 \pm 0,1$ EU/мл, что было статистически значимо ($p < 0,05$) выше относительно детей, инфицированных *H. pylori* с менее вирулентным генотипом – $1,6 \pm 0,1$ EU/мл и группы контроля. Уровень значимости различий между группами сравнения – $p < 0,001$.

Нами был проведен статистический двухфакторный анализ с учетом изучения влияния таких факторов, как тяжесть деструктивного процесса СО ДПК и инфицированность вирулентными штаммами *H. pylori* в отдельности по каждому фактору, а также в их совокупности на концентрацию ЛПС у детей с ХГДП.

При проведении данного анализа установлено, что инфицирование вирулентными штаммами *H. pylori* оказывает влияние ($p < 0,001$) на увеличение концентрации ЛПС в сыворотке крови пациентов. Среднее значение концентрации ЛПС в группе детей с ЯБ ДПК, которые были инфицированы вирулентными штаммами *H. pylori*, составило $2,23 \pm 0,1$ EU/мл (95 % ДИ $1,95-2,51$ EU/мл), а при инфицировании менее вирулентными штаммами детей с ЯБ ДПК данный показатель составил $1,62 \pm 0,3$ EU/мл (95 % ДИ $1,06-2,18$ EU/мл). Среди пациентов с ЭБ, при наличии штаммов *H. pylori* с генотипом *cagA+vacAs1m1*, среднее значение уровня ЛПС составило $2,42 \pm 0,1$ EU/мл (95 % ДИ $2,14-2,70$ EU/мл), а при их отсутствии – $1,54 \pm 0,1$ EU/мл (95 % ДИ $1,31-1,78$ EU/мл).

Таким образом, эрозивно-язвенные заболевания ДПК, ассоциированные с инфекцией *H. pylori*, у детей протекают на фоне микробиологических нарушений пищеварительного тракта с развитием СЭИ. Инфицирование вирулентными штаммами *H. pylori* с генотипом *cagA+vacAs1m1* ассоциировано с более выраженной активацией эндотоксиновой агрессии и накоплением МСМ в сыворотке крови данных пациентов. Длительное воздействие СЭИ на организм можно рассматривать в качестве одного из факторов поддержания воспалительно-деструктивного процесса СО ДПК на фоне персистенции *H. pylori*.

Литература

- Абдуллина Е.В. Особенности течения хронической *Helicobacter pylori*-ассоциированной гастродуоденальной патологии у детей в зависимости от генетических особенностей микроорганизма // Практическая медицина. – 2012. – № 3 (58). – С. 41-44.
- Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Роль эндотоксина кишечной микрофлоры в физиологии и патологии человека // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2013. – № 3. – С. 3.
- Гольбрайх В.А., Маскин С.С., Матюхин В.В. и др. Патогенез синдрома эндогенной интоксикации при острой кишечной непроходимости // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 8-12.

4. Дудникова Э.В., Харламова А.В. Эндогенная интоксикация у детей с хроническим гастроуденитом и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 2 (125). – С. 42-45.

5. Налётот А.В. Вплив токсигенних штамів *Helicobacter pylori* на тяжкість перебігу хронічної гастроуденальної патології у дітей // Здоров'я ребенка. – 2014. – № 8 (59). – С. 24-28.

6. Шадрин О.Г., Зайцева Н.Е., Гарынычева Т.А. *Helicobacter pylori* у детей: современные подходы к диагностике и пути оптимизации терапии // Современная педиатрия. – 2014. – Т. 5, № 61. – С. 119-127.

7. Opal S.M. Endotoxins and other sepsis triggers // Contrib. Nephrol. – 2010. – Vol. 167. – P. 14-24.

8. Sepulveda A.R. *Helicobacter*, Inflammation, and Gastric Cancer // Curr. Pathobiol. Rep. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 9-18.

Literature

1. Abdullina E.V. Peculiarities of chronic *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal pathology development in children depending on genetic peculiarities of the microorganism // Practical medicine. – 2012. – № 3 (58). – P. 41-44.

2. Bondarenko V.M., Likhoded V.G. Role of gut microorganisms endotoxin on the physiology and pathology in human organism // Bulletin of Orenburg scientific center YrO RAC. – 2013. – № 3. – P. 3.

3. Golbraikh V.A., Maskin S.S., Matyukhin V.V. Pathogenesis of endogenous intoxication syndrome in patients with acute intestinal obstruction // Astrakhan medical journal. – 2013. – Vol. 8, № 3. – P. 8-12.

4. Dudnikova E.V., Kharlamova A.V. Endogenous intoxication in children with chronic gastroduodenitis and

gastroesophageal reflux disease // Kuban scientific medical bulletin. – 2011. – № 2 (125). – P. 42-45.

5. Nalotov A.V. Вплив токсигенних штамів *Helicobacter pylori* на тяжкість перебігу хронічної гастроуденальної патології у дітей // Children health. – 2014. – № 8 (59). – P. 24-28.

6. Shadrin O.G., Zaitseva N.E., Garinicheva T.A. *Helicobacter pylori* in children: modern approach in diagnosis and ways of therapy optimization // Modern pediatry. – 2014. – Vol. 5, № 61. – P. 119-127.

7. Opal S.M. Endotoxins and other sepsis triggers // Contrib. Nephrol. – 2010. – Vol. 167. – P. 14-24.

8. Sepulveda A.R. *Helicobacter*, Inflammation, and Gastric Cancer // Curr. Pathobiol. Rep. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 9-18.

Координаты для связи с авторами: Налётот Андрей Васильевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры педиатрии и детских инфекций Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, тел. +3-(095)-123-49-99, e-mail: nalyotov-a@mail.ru.



УДК 612.017.11:616.61-002.3:616-053.37

Е.П. Батаева

УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА G308A В ГЕНЕ TNF-А

Читинская государственная медицинская академия,
672090, ул. Горького, 39а, тел. 8-(3022)-32-00-85, e-mail: pochta@medakadem.chita.ru, г. Чита

Резюме

Обследованы 36 детей, страдающих обструктивными и необструктивными пиелонефритами и 100 здоровых детей соответствующего возраста и пола, проживающих в Забайкальском крае. Проведена сравнительная характеристика частоты встречаемости полиморфизма G308A гена TNFα между здоровыми и больными детьми. Изучен уровень иммуноглобулинов А, М, подклассов G у представителей исследуемых групп, а также попытка выявить особенности клинического течения пиелонефритов в зависимости от факта носительства изучаемого полиморфизма. Исследования показали, что вариант AA исследуемого гена является фактором риска развития обструктивных пиелонефритов и нефросклероза. Полиморфизм гена TNFα (G308A) играет роль в повышенном содержании IgA в конце лечения. Одновременно влияния полиморфного аллеля на тяжесть состояния при пиелонефритах у детей не отмечено.

Ключевые слова: пиелонефрит у детей, полиморфизм генов цитокинов, генотип, иммуноглобулины, клинический индекс, нефросклероз, иммунитет.