

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ФЛОРЫ В ИНДУКЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ ОСТРЫХ ДИАРЕЯХ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Безкаравайный Б. А., Прилуцкий А. С., Яковенко Н. А.*

Луганский государственный медицинский университет

**Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького*

Исследование уровней антител к эндотоксину грамотрицательной флоры класса М у детей раннего возраста с острой диареей свидетельствует о том, что грамотрицательная флора является этиологическим возбудителем, как инвазивных, так и секреторных диарей и выявляется в 53% и 27% случаев соответственно. Существует сильная прямая корреляция между уровнем IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры и уровнем провоспалительных цитокинов, как в группе детей с инвазивными, так и в группе детей с секреторными диареями.

Ключевые слова: острая диарея, дети раннего возраста, антитела к эндотоксину грамотрицательной флоры, интерлейкины.

Неуклонное увеличение инфекционных поражений различной этиологии и локализации в структуре заболеваемости детского населения заставило в последние годы с большим вниманием отнестись к вопросам данной патологии [5]. Течение и исход любого заболевания, в том числе и острых диарей, во многом определяются своевременностью включения и адекватностью иммунных реакций. Поэтому изменения показателей иммунитета являются наиболее информативными как для постановки диагноза, так и для выбора наиболее эффективной схемы лечения заболевания.

В начале 90-х гг. появилась новая (эндотоксиновая) теория М. Ю. Яковлева о роли эндотоксина грамотрицательных бактерий в физиологии и патологии человека. Считается, что именно эндотоксин грамотрицательных инфекций играет одну из ведущих ролей в формировании синдрома эндогенной интоксикации. Он обладает исключительно высокой биологической активностью и относится к числу наиболее сильных экзогенных модуляторов иммунологической реактивности. Основное патофизиологическое действие эндотоксина опосредуется индукцией выброса целого ряда эндогенных медиаторов воспаления, синтезируемых в основном клетками миеломоноцитарного ряда. В ранний период эндотоксемии установлено повышение образования белков острой фазы (С-реактивного белка, трансферрина, гаптоглобина, ИЛ-6, ИЛ-1, TNF- α), коррелирующее с выраженностью эндотоксемии (Giovambattista A. et al., 2000). Сеть цитокинов и воспалительных молекул передает сигналы между нейтрофилами, моноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками, а аутокринная и паракринная активация приводит к синергизму потенцирования воспалитель-

ного ответа [3]. Наиболее частыми причинами эндотоксиновой агрессии являются кишечные дисбиозы, острые кишечные инфекции, хронический стресс, болезни печени, почек, острые вирусные заболевания. Становится понятным актуальность исследования, направленного на установление взаимосвязи между нарушениями иммунного, цитокинового статуса организма. Выявление закономерности их формирования на ранних этапах развития заболевания может стать важным диагностическим и прогностическим фактором развития не только заболевания желудочно-кишечного тракта, но и поражения других систем организма, что позволит разработать схему лечебно-профилактических мероприятий по снижению бактериальной сенсибилизации, коррекции дисбиоза, нормализации иммунных адаптационных механизмов [2].

Цель и задачи исследования: определить состояние антиэндотоксинового иммунитета грамотрицательной флоры при острых диареях у детей раннего возраста; оценить активность сывороточных цитокинов, их патогенетическую роль в течении заболевания.

Материалы и методы исследования

Для изучения антиэндотоксинового иммунитета и цитокинового профиля выполнено обследование 60 детей с диареей в возрасте от 1 месяца до 3 лет, которые проходили лечение на базе областной детской инфекционной больницы г. Луганска. Дети были разделены на 2 группы: 1-я группа – дети с инвазивной диареей (30 пациентов), 2-я – группа с секреторной диареей (30 пациентов). Данное разделение было основано на клинических проявлениях заболевания согласно протоколам диагностики и лечения

инфекционных болезней у детей (Приказ МОЗ № 354 от 09.07.2004г) [1, 4]. Верификация диагноза проводилась стандартными клиническими, лабораторными и инструментальными методами исследования.

Уровни антиэндотоксиновых антител класса М определяли иммуноферментными тестами для определения антител к эндотоксину грамотрицательной флоры в острый период заболевания и в период реконвалесценции. Уровни ИЛ-1 β , ИЛ-8 и TNF- α определяли количественными иммуноферментными тестами на 1-е и на 7-е сутки заболевания.

Полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программ Excel, Statistica v. 6.0. При анализе полученных данных для проверки распределения на нормальность использовали хи-квадрат и критерий W Шапиро-Уилка. В качестве непараметрического критерия связи использовался коэффициент корреляции рангов Спирмэна.

Результаты исследования и их обсуждение

Высокие уровни IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры (>0,200 у. е.) были выявлены в 53% случаев в группе детей с инвазивными диареями и составили в среднем 0,78 \pm 0,273 у. е. и 0,769 \pm 0,298 у.е. в 1-й день и на 7-й день соответственно. В группе детей с секреторными диареями высокие уровни IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры (>0,200 у. е.) были выявлены в 27% случаев и составляли в среднем 0,717 \pm 0,29 у. е. в 1-й день заболевания и 1,134 \pm 0,125 у. е. на 7-й день. Анализируя динамику уровней IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры следует отметить, что в группе детей с инвазивными диареями в динамике заболевания его уровень имел тенденцию к сни-

жению, но всё же оставался высоким ($p > 0,05$), в группе детей с секреторными диареями он достоверно повышался ($p < 0,01$). В то же время, согласно непараметрическому критерию Спирмэна, выявлена сильная прямая связь ($r = +0,54$, достоверный с $P = 99\%$) между снижением уровня IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры и клиническим улучшением в группе детей с инвазивными диареями. В группе детей с секреторными диареями, коэффициент корреляции Спирмэна является числом отрицательным ($r = -0,58$, достоверный с $P = 95\%$), т. е. имеется тесная обратная связь между достоверно повышающимися в динамике значениями IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры и клиническим улучшением. Полученные данные свидетельствуют о незавершённости иммунного ответа на фоне клинического улучшения в группе детей с секреторными диареями (рис. 1).

Анализ цитокинового профиля организма при острых диареях у детей показал, что в острый период высокий уровень ИЛ-1 β (>14 пг/мл) отмечался в 53% случаев в группе детей с инвазивными диареями и составлял в среднем 30,94 \pm 10,9 пг/мл и в 20% случаев в группе детей с секреторными диареями – 17,42 \pm 1,7 пг/мл. После проведенного лечения как в первой, так и во второй группе детей уровень ИЛ-1 β достоверно понижался ($p < 0,01$) и составлял соответственно 3,66 \pm 3,347 пг/мл и 1,14 \pm 1,027 пг/мл. Что касается ИЛ-8, то этот показатель оказался высоким (>30 пг/мл) у 60% больных в группе детей с инвазивными диареями и в 20% случаев в группе детей с секреторными диареями и составлял количественно соответственно 50,76 \pm 13,02 пг/мл и 40,32 \pm 6,4 пг/мл в острый период заболевания. На 7-е сутки уровень ИЛ-8 также достоверно понижался ($p < 0,01$) и составлял 10,14 \pm 7,2 пг/мл и 8,27 \pm 5,15 пг/мл в группе детей с секреторными и инвазивными

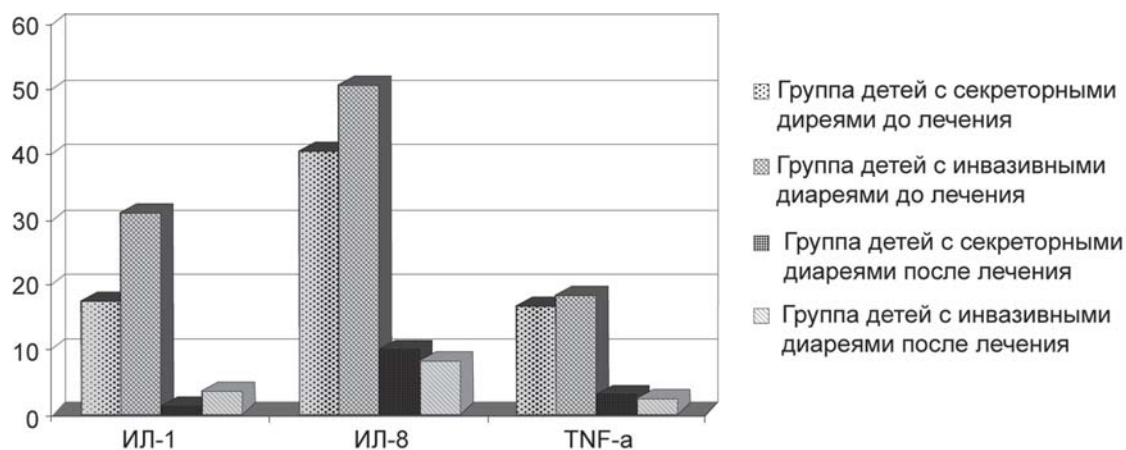


Рис. 1. Динамика уровней иммуноглобулинов к эндотоксину грамотрицательной флоры при острых диареях у детей раннего возраста (у.е.)

диареями соответственно. Высокий уровень TNF- α (>14 пг/мл) выявлялся в 53% случаев в группе детей с инвазивными диареями и составлял $18,19 \pm 4,27$ пг/мл и в 20% случаев в группе детей с секреторными диареями – $16,8 \pm 3,02$ пг/мл. После лечения данные показатели также достоверно ($p < 0,01$) снижались в обеих группах (рис. 2).

Нами выявлена сильная прямая связь между уровнями ИЛ-1 β и IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры ($r = +0,727$ и $r = +0,802$, достоверные с $P = 99\%$) в группе детей с секреторными и группе детей с инвазивными диареями соответственно в острый период заболевания. Уровень ИЛ-8 в группе детей с инвазивными диареями также имеет сильную прямую корреляцию с уровнем IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры ($r = +0,795$, достоверный с $P = 99\%$). В группе детей с секреторными диареями в острый период заболевания коэффициент корреляции между этими показателями составляет $r = +0,541$ (достоверный с $P = 99\%$), что также свидетельствует о заметной прямой связи. Что касается корреляции между уровнями IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры и TNF- α , то в острый период в группе детей с секреторными диареями имеется также заметная прямая связь ($r = +0,527$, достоверный с $P = 99\%$), а в группе детей с инвазивными диареями полученный коэффициент корреляции $r = +0,359$ недостоверен.

Выводы

1. Определение антиэндотоксиновых антител класса M иммуноферментными тестами для определения антител к эндотоксину грамотрицательной флоры позволило выявить грамотрицательную флору в 53% случаев в группе детей с инвазивными диареями.

2. В группе детей с секреторными диареями, несмотря на общеизвестные данные о том, что основным этиологическим возбудителем данной группы диарей у детей раннего возраста являются вирусы, применение вышеуказанного метода позволило выявить грамотрицательную флору в 27% случаев, что подтверждается высокими уровнями иммуноглобулина M к эндотоксину грамотрицательной флоры.

3. Высокие показатели уровня IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры коррелируют с динамикой клинических симптомов поражения желудочно-кишечного тракта ($r = +0,54$) в группе детей с инвазивными диареями.

4. В группе детей с секреторными диареями имеется сильная обратная корреляция ($r = -0,58$) между клиническими симптомами и уровнями IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры. Несмотря на явную положительную клиническую динамику заболевания, уровни IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры остаются высокими ($p < 0,01$) с достоверным повышением в течение заболевания, что свидетельствует о незавершенности иммунного процесса.

5. Существует сильная прямая связь между уровнями провоспалительных интерлейкинов ИЛ-1 β , ИЛ-8 и IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры как в группе детей с секреторными, так и в группе детей с инвазивными диареями в острый период заболевания.

6. Достоверная корреляция между уровнем TNF- α и IgM к эндотоксину грамотрицательной флоры существует только в группе детей с секреторными диареями.

7. В группе детей с инвазивными диареями в острый период заболевания уровни провоспалительных ИЛ-1 β и ИЛ-8 достоверно ($p < 0,01$) выше, чем в группе детей с секреторными диареями, что может свидетельствовать о преобладании воспалительного компонента в данной группе диарей.

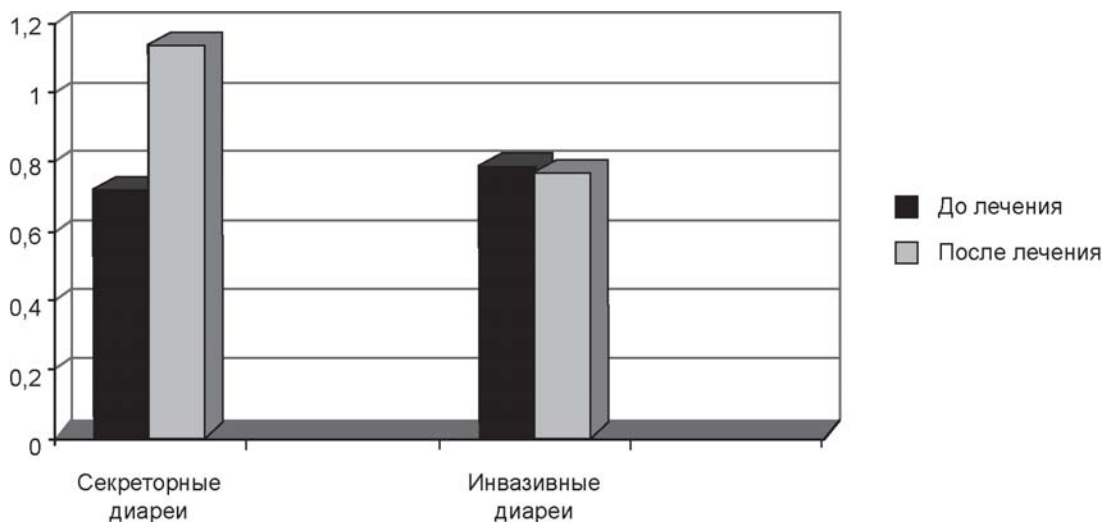


Рис. 2. Динамика уровней провоспалительных цитокинов при острых диареях у детей раннего возраста (пг/мл)

Литература

1. Крамарев С. О., Чернишова Л. І., Надрага Б. О., Прохоров Є. В., Безкаравайний Б. О. Сучасні підходи до лікування гострих кишкових інфекцій у дітей. Антибіотико-асоційовані діареї у дітей. Методичні рекомендації. – Київ, 2008. – 32 с.
2. Оцінка цитокинового профілю дітей із порушеннями мікробіоти кишечника та його патогенетична обумовленість// Клиническая педиатрия. – 2008. – № 4 (13). – С. 55–58.
3. Притуло Л. Ф. Антиендотоксинальный иммунитет у детей с гнойно-деструктивными пневмониями с учётом тинкториальных свойств возбудителя на этапе госпитализации// Вопросы детской хирургии, интенсивной терапии и реанимации в практике педиатра. – 2008. – № 6 (15). – С. 97–101.
4. Протоколи діагностики та лікування інфекційних хвороб у дітей. Наказ МОЗ № 354 від 09.07.2004 р.
5. Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome symptom responses to cytokine profiles/ O. Mahony, Mc.J. Carthy, P. Kelly et al. // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 128. – P. 541–551.

РОЛЬ БАКТЕРІАЛЬНИХ ЕНДОТОКСИНІВ ГРАМНЕГАТИВНОЇ ФЛОРИ В ІНДУКЦІЇ УТВОРЕННЯ ЦИТОКІНІВ ПРИ ГОСТРИХ ДІАРЕЯХ У ДІТЕЙ РАНЬОГО ВІКУ

Безкаравайний Б. О., Прилуцький О. С. , Яковенко Н. О.*

Луганський державний медичний університет

**Донецький національний медичний університет ім. М. Горького*

Дослідження рівнів антитіл до ендотоксину грам-негативної флори класу М у дітей раннього віку з гострою діареєю свідчить, що грам-негативна флора є етіологічним збудником, як інвазивних, так і секреторних діарей і виявляється в 53% та 27% випадків відповідно. Існує сильна пряма кореляція між рівнем IgM до ендотоксину грам-негативної флори та рівнем прозапальних цитокінів, як в групі дітей з інвазивними, так і в групі дітей з секреторними діареями.

Ключові слова: гостра діарея, діти раннього віку, антитіла до ендотоксину грам-негативної флори, інтерлейкіни.

THE ROLE OF BACTERIAL ENDOTOXIN OF GRAM- NEGATIVE FLORA IN INDUCTION OF INTERLEUKINS' SYNTHESIS AT ACUTE DIARRHEA IN CHILDREN OF EARLY AGE

Bezkaravayniy B. O., Prilutskiy A. S., Yakovenko N. A.

Lugansk State Medical University

Analysis of antibodies to endotoxin of gram-negative flora shows that gram-negative flora is the etiological agent of 53% cases of secretory diarrhea and 27% cases of invasive diarrhea. Strong correlation between IgM to endotoxin of gram-negative flora and level of proinflammatory interleukins takes place at acute diarrhea in children.

Key words: acute diarrhea, children of early age, antibodies to endotoxin of gram-negative flora, interleukins.