

© Коллектив авторов, 2010

В.П. Булатов, А.А. Камалова, О.Д. Зинкевич, Н.А. Сафина

РОЛЬ СИСТЕМНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ, АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА В РАЗВИТИИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ

ГОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет Росздрава,
ГОУ ДПО Казанская государственная медицинская академия Росздрава, РФ

В статье представлены результаты исследования показателей системной эндотоксинемии, а также антиэндотоксिनного и антибактериального иммунитета детей с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. При клиническом обследовании и оценке изучаемых показателей 31 пациента с дуоденальной язвой установлены высокие показатели системной эндотоксинемии, а также увеличение продукции антител к представителям кишечной микрофлоры.

Ключевые слова: язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, дети, эндотоксин, антиэндотоксिनный и антибактериальный иммунитет, кишечная микрофлора, антитела.

Parameters of systemic endotoxemia and antiendotoxin and antibacterial immunity were investigated in children with duodenal ulcer. Clinical examination and evaluation of studied parameters in 31 patients with duodenal ulcer showed high level of systemic toxemia markers and increased production of antibodies to intestinal microflora.

Key words: duodenal ulcer, children, endotoxin, antiendotoxin and antibacterial immunity, intestinal microflora, antibodies.

По данным отечественных педиатров, язвенная болезнь (ЯБ) диагностируется у 8–12% детей с гастродуоденальной патологией и составляет 5–6% в структуре заболеваний пищеварительного тракта. При этом у 85–90% детей выявляется дуоденальная локализация язвенного процесса [1–3].

Современная терапия, включающая эрадикационные схемы и антисекреторные препараты, привела к сокращению сроков репарации, частоты рецидивов и осложнений ЯБ [4]. Тем не менее по данным Цветковой Л.Н. и соавт. [4], основанном на ретроспективном анализе историй болезни 2000 детей с ЯБ, сохраняются случаи рецидивирующего течения заболевания и развития осложнений – желудочно-кишечного кровотечения и стеноза бульбодуоденального перехода.

В качестве основных причин рецидивирования заболевания и формирования его осложнений рассматривают неэффективность эрадикационной терапии и реинфицирование *H. pylori*. Снижение эффективности эрадикационной терапии связано как с повышением резистентности *H. pylori* к

антибактериальным препаратам в составе используемых схем, так и с развитием антибиотик-ассоциированной диареи, лимитирующей прием данных средств [5].

В последнее время появляются публикации, подтверждающие активацию условно-патогенной микрофлоры (УПМ) в содержимом язвы и перилульцерозной зоне при рецидиве ЯБ двенадцатиперстной кишки (ДК). Полагают, что микроорганизмы, относящиеся к УПМ, не являются первопричиной воспалительных поражений слизистой оболочки (СО) желудка и ДК и ЯБ, но их присутствие поддерживает язвенный процесс [6].

Несомненно, развитию микробиологических нарушений способствует эрадикационная терапия: антибиотики, помимо *H. pylori*, угнетают рост нормальной микрофлоры, антисекреторная терапия снижает действие кислотно-пептического фактора, являющегося важным сдерживающим фактором активного заселения микроорганизмами СО гастродуоденальной зоны.

Одним из значимых последствий дисбио-

Контактная информация:

Булатов Владимир Петрович – д. м. н., проф., зав. каф. госпитальной педиатрии с курсами поликлинической педиатрии и последипломного образования ГОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет Росздрава
Адрес: 420012 г. Казань, ул. Бутлерова, 49
Тел.: (843) 238-48-15, E-mail: aelitakamalova@gmail.com
Статья поступила 30.12.10, принята к печати 26.01.11.

за является транслокация бактерий кишечника в несвойственные ей биотопы и кровотоки. Основными представителями кишечной микрофлоры являются грамотрицательные бактерии. В состав клеточной стенки этих микроорганизмов входит липополисахарид (ЛПС), известный также под названием эндотоксин (ЭТ) в связи с его способностью оказывать токсическое действие на различные клетки и ткани организма [7, 8]. При дисбиозах с увеличением грамотрицательных бактерий в кишечнике возрастает поступление ЭТ в кровоток [9] и значительно снижаются показатели иммунитета к ЭТ [10], в результате создаются условия для патогенного действия ЭТ.

Недавно проведенное исследование, посвященное изучению иммунных механизмов в развитии ЯБДК, выявило наличие дисрегуляции иммунного ответа, характеризующейся, в частности, усиленной продукцией IgG-антител (АТ) к УПМ, а также к представителям нормальной микрофлоры. Причем обнаружение вышеуказанных АТ ассоциировалось с продукцией антител к тканевым антигенам, что расценивалось авторами как возможность аутоиммунных нарушений при ЯБДК у детей [11, 12].

Целью нашего исследования явилась оценка показателей системной эндотоксинемии и гуморального звена антиэндотоксинового и антибактериального иммунитета у детей и подростков с обострением ЯБДК.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением в условиях гастроэнтерологических отделений Детской республиканской клинической больницы МЗ РТ и Детской городской больницы № 2 г. Казани находился 31 ребенок с обострением ЯБДК в возрасте от 9 до 17 лет.

Наряду со всесторонним комплексным обследованием (включая ЭГДС, УЗИ органов брюшной полости), практически у всех больных и у 20 условно-здоровых детей (контрольная группа) исследовали показатели ЭТ, антиэндотоксинового и антибактериального гуморального иммунитета к представителям кишечной флоры (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides fragilis*) по классам АТ (IgG, IgM, IgA).

Концентрацию ЭТ в сыворотке крови определяли с помощью «Микро-ЛАЛ-теста» [13] и выражали в EU/ml (международная единица активности). «Микро-ЛАЛ-тест» основан на способности гемолимфы рачка *Limulus polyphemus* коагулировать при контакте с ЛПС любого происхождения, определяет интегральные показатели концентрации ЭТ (бактериальных ЛПС).

Концентрацию антиэндотоксиновых и антибактериальных АТ в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. В качестве антигена ЭТ использовали гликолипид *S. minnesota* RE 595 (Sigma, USA), ЛПС *E. coli* (Sigma, USA). В качестве антигенов

P. mirabilis, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. fragilis*, *K. pneumoniae*, *Candida albicans* и др. использовали ультразвуковые дезинтеграторы этих бактерий, подвергнутые ультразвуцифугированию и гельфилтрации [14]. Концентрацию АТ выражали в мкг/мл.

Сыворотку крови для исследования собирали при поступлении в стационар до начала терапии.

Нормальность распределения признака в вариационном ряду оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения, представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Данные, не подчиняющиеся закону нормального распределения, представлены в виде медианы и крайних значений вариационного ряда. При сравнении количественных признаков двух совокупностей, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали критерий Стьюдента. Критерий Манна–Уитни применяли, если сравниваемые совокупности не подчинялись закону нормального распределения. Для оценки связи между признаками применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена [15]. Уровень статистической значимости $p < 0,05$. Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы BIOSTATISTICA (S.A. Glantz, McGraw Hill), табличного редактора Microsoft Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

По нашим данным, содержание ЭТ в сыворотке крови больных ЯБДК составило 2,7 (0,03–2,3) EU/ml ($n=26$), что превышало показатели детей контрольной группы – $1,03 \pm 0,77$ EU/ml ($p=0,0005$). Высокие показатели системной эндотоксинемии у пациентов с ЯБДК, возможно, объясняются более глубокими нарушениями микроэкологии СО ДК, ранее подтвержденные микробиологическими методами, что и позволило ряду исследователей сравнить язвенный дефект с инфицированной раной [6].

Следует также учитывать, что с увеличением концентрации ЭТ, возможно, происходит праймирование клеток врожденного иммунитета с последующим гиперответом на незначительные стимулы, что ведет к усиленной продукции фактора некроза опухолей и других медиаторов, усиленной активации системы комплемента и факторов свертывания крови, накоплению в клетках продуктов перекисного окисления липидов. Взаимодействие сорбированного на поверхности клеток ЭТ с АТ и комплементом также может приводить к гибели клеток [7]. А ЯБДК, как известно, характеризуется развитием хронического воспаления и деструктивного процесса.

Повышение концентрации ЭТ в просвете кишечника связано как с повышением проницаемости кишечного барьера, так и с дефицитом факторов, обеспечивающих антиэндотоксиновую защиту. ЭТ выделяется во внешнюю среду в основном при разрушении бактериальных клеток. Кроме

Таблица 1

Показатели антиэндотоксиновых и антибактериальных IgA-АТ к кишечной микрофлоре при ЯБДК у детей

IgA, мкг/мл	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	p
	(n=20)	(n=21)	(n=10)	
ЭТ	0,026 (0,006–0,284)*	0,039 (0,001–0,896)	0,044 (0,006–1,287)	$p_{k-1}=0,53$ $p_{k-2}=0,31$
<i>E. coli</i>	0,064 (0,016–0,487)	0,03 (0,002–5,307)	0,09 (0,001–1,487)	$p_{k-1}=0,04$ $p_{k-2}=0,66$
<i>Ps. aeruginosa</i>	0,075 (0,004–1,975)	0,03 (0,003–10,093)	0,147 (0,003–3,235)	$p_{k-1}=0,64$ $p_{k-2}=0,38$
<i>P. mirabilis</i>	0,014 (0–0,069)	0,005 (0–1,64)	0,09 (0–1,166)	$p_{k-1}=0,93$ $p_{k-2}=0,01$
<i>Bifidobac.</i>	0,013 (0,003–0,364)	0,061 (0,002–0,34)	0,017 (0,008–1,539)	$p_{k-1}=0,06$ $p_{k-2}=0,46$
<i>B. fragilis</i>	0,012 (0,002–0,237)	0,002 (0–0,771)	0,038 (0–1,344)	$p_{k-1}=0,02$ $p_{k-2}=0,03$
<i>K. pneumoniae</i>	0,045 (0–0,223)	0,044 (0–4,894)	0,483 (0,09–4,387)	$p_{k-1}=0,93$ $p_{k-2}=0$
<i>Candida</i>	0,075 (0–0,494)	0,138 (0,008–5,811)	0,805 (0,016–5,435)	$p_{k-1}=0,14$ $p_{k-2}=0$
<i>S. aureus</i>	0,05 (0–0,316)	0,011 (0,001–1,905)	0,347 (0,002–2,188)	$p_{k-1}=0,6$ $p_{k-2}=0,01$

Здесь и в табл. 2 и 3: * медиана (минимум–максимум).

того, небольшое количество ЭТ может освобождаться и живыми грамтрицательными бактериями, что в условиях многочисленности популяции *E. coli* в кишечнике может создавать достаточно высокую его концентрацию. При поступлении в общий кровоток доз ЭТ менее 1,0 EU/ml имеет место физиологическая системная эндотоксемия, значение которой заключается в поддержании иммунитета и физиологического тонуса других систем [7, 8]. Однако нарушение барьерных и нейтрализующих функций антиэндотоксиновых факторов может сопровождаться развитием недостаточности антиэндотоксинового иммунитета. Избыточное поступление ЭТ в воротную вену и системный кровоток может приводить к развитию эндотоксиновой агрессии. Большое значение в защите организма от ЭТ имеет лимфоретикулярная ткань кишечной стенки, в частности продуцируемый плазматическими клетками IgA [7, 8].

Наиболее мощным гуморальным ЭТ-нейтрализующим фактором являются АТ. Этиология эндотоксиновой агрессии может быть обусловлена практически всем спектром грамтрицательных бактерий, населяющих желудочно-кишечный тракт. Поэтому наряду с оценкой антиэндотоксинового иммунитета нами было проведено определение показателей гуморального звена антибактериального иммунитета к представителям кишечной микрофлоры.

С учетом выявленных различий, мы разделили пациентов с ЯБДК на 2 группы: 1-ю группу

составили пациенты с наличием только язвенного дефекта в ДК (ЯБДК), во 2-ю группу вошли дети, у которых наряду с язвой при проведении ЭГДС были обнаружены эрозии в желудке и/или ДК (ЯБДК+ЭГД).

Уровни АТ к ЭТ не различались от показателей контрольной группы, несмотря на обнаружение нами высоких показателей системной эндотоксемии у пациентов с ЯБДК. Возможно, при хронизации заболевания отсутствует адекватная реакция на развитие эндотоксемии, что свидетельствует об истощении компенсаторных возможностей организма, в связи с чем содержание специфических к нему АТ снижается и /или не превышает физиологические показатели, как и наблюдалось в нашем исследовании. Полученные в ходе исследования показатели антиэндотоксинового и антибактериального иммунитета результаты представлены в табл. 1–3.

Из табл. 1 видно, что в 1-й группе нами отмечено снижение титров IgA к *E. coli* и бактероидам. Во 2-й группе достоверно различались от показателей контроля большинство исследуемых параметров, а именно, повышались уровни АТ к *P. mirabilis*, *B. fragilis*, *K. pneumoniae*, грибам рода *Candida* и *S. aureus*.

Исследование содержания IgM обнаружило повышение концентрации АТ к *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *B. fragilis*, грибам рода *Candida* и *S. aureus* у детей 1-й группы. Во 2-й группе повышались титры АТ к *P. mirabilis*, *B. fra-*

Таблица 2

Показатели антиэндотоксиновых и антибактериальных IgM-АТ к кишечной микрофлоре при ЯБДК у детей

IgM, мкг/мл	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	p
	(n=20)	(n=21)	(n=10)	
ЭТ	10,253 (0,848–38,153)	15,959 (0,566–89,025)	11,787 (0–63,035)	$p_{k-1}=0,14$ $p_{k-2}=0,9$
<i>E. coli</i>	7,823 (0,848–88,296)	25,504 (3,13–354,383)	19,608 (3,005–126,684)	$p_{k-1}=0,01$ $p_{k-2}=0,11$
<i>Ps. aeruginosa</i>	12,058 (0,823–173,245)	41,775 (2,688–406,821)	49,84 (4,976–161,63)	$p_{k-1}=0,01$ $p_{k-2}=0,07$
<i>P. mirabilis</i>	7,246 (0–113,216)	38,93 (1,748–384,514)	36,745 (0–114,941)	$p_{k-1}=0$ $p_{k-2}=0,04$
<i>Bifidobac.</i>	3,493 (0,502–10,109)	5,174 (0,508–101,504)	8,287 (0,085–30,046)	$p_{k-1}=0,05$ $p_{k-2}=0,1$
<i>B. fragilis</i>	3,596 (0,543–14,705)	7,211 (0,848–183,396)	7,714 (2,438–30,117)	$p_{k-1}=0,01$ $p_{k-2}=0,04$
<i>K. pneumoniae</i>	10,623 (0–86,95)	18,717 (0–251,542)	48,503 (3,471–214,526)	$p_{k-1}=0,38$ $p_{k-2}=0,02$
<i>Candida</i>	4,115 (0–25,158)	20,565 (1,541–281,96)	21,586 (1,697–56,053)	$p_{k-1}=0$ $p_{k-2}=0$
<i>S. aureus</i>	5,417 (0–21,539)	17,953 (2,419–136,416)	41,886 (1,139–145,816)	$p_{k-1}=0$ $p_{k-2}=0,01$

Таблица 3

Показатели антиэндотоксиновых и антибактериальных IgG-АТ к кишечной микрофлоре при ЯБДК у детей

IgG, мкг/мл	Контрольная группа	1-я группа	2-я группа	p
	(n=20)	(n=21)	(n=10)	
ЭТ	5,458 (0,97–89,01)	5,822 (0,606–40,148)	6,037 (2,149–113,339)	$p_{k-1}=0,94$ $p_{k-2}=0,16$
<i>E. coli</i>	12,874 (2,911–58,522)	26,108 (1,231–501,162)	22,848 (7,08–224,462)	$p_{k-1}=0,07$ $p_{k-2}=0,02$
<i>Ps. aeruginosa</i>	12,373 (2,01–45,801)	18,507 (1,888–181,48)	30,945 (5,822–432,41)	$p_{k-1}=0,53$ $p_{k-2}=0,1$
<i>P. mirabilis</i>	19,297 (2,911–122,471)	22,654 (1,598–326,9)	35,715 (5,822–212,558)	$p_{k-1}=0,84$ $p_{k-2}=0,08$
<i>Bifidobac.</i>	3,568 (0,582–27,176)	15,366 (0,582–50,71)	7,513 (1,479–78,373)	$p_{k-1}=0$ $p_{k-2}=0,11$
<i>B. fragilis</i>	0 (0–10,284)	1,64 (0–29,288)	0,581 (0–59,558)	$p_{k-1}=0,07$ $p_{k-2}=0,57$
<i>K. pneumoniae</i>	37,469 (2,911–159,155)	41,269 (4,151–504,294)	58,226 (6,436–783,496)	$p_{k-1}=1$ $p_{k-2}=0,24$
<i>Candida</i>	22,413 (2,911–194,144)	74,405 (2,017–768,119)	179,5 (5,822–753,179)	$p_{k-1}=0,01$ $p_{k-2}=0$
<i>S. aureus</i>	18,75 (1,545–123,196)	15,819 (1,331–715,879)	165,09 (5,822–451,867)	$p_{k-1}=0,81$ $p_{k-2}=0$

gilis, *K. pneumoniae*, грибам рода *Candida* и *S. aureus* (табл. 2).

Достоверно высокий уровень IgG к *E. coli*, грибам рода *Candida* и *S. aureus* определялся во 2-й группе. В 1-й группе повышались IgG к бифидобактериям и грибам рода *Candida* (табл. 3).

Таким образом, при ЯБДК в большинстве случаев показатели специфического гуморального

иммунитета были достоверно выше, чем в контрольной группе, что согласуется с данными литературы [11, 12].

Высокие уровни АТ к индигенной облигатной микрофлоре – бифидобактериям, бактериоидам у больных с гастроудоденальной патологией, особенно при ЯБДК, не всегда можно расценивать как положительный момент, поскольку в

условиях дисбактериоза индигенная микрофлора также может проявлять патогенные свойства. Проникшие в кровотоки бифидо-, энтеробактерии (в частности, кишечная палочка) и бактериоиды могут индуцировать гуморальный ответ на свои антигены, поэтому в настоящее время не исключается факт, что бифидобактерии как основной представитель нормальной микрофлоры кишечника могут преодолевать иммунологическую толерантность [16].

Высокие показатели АТ к отдельным представителям кишечной микрофлоры возможно объяснить с позиции обнаружения микробиологических нарушений в СО ДК при рецидиве ЯБДК. В условиях выраженных воспалительных и деструктивных изменений СО ДК увеличивается ее проницаемость, в частности и для бактериальных антигенов. Так, в недавно опубликованном исследовании авторы обнаружили в биоптатах СО периульцерозной зоны микроорганизмы 28 различных родов и видов, причем *H. pylori* выделялись лишь в 33% случаев, а у 70,8–100% больных доминировали стафилококки и стрептококки, у 66% – бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, у 40–48% – бак-

териоиды, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, микрококки, лактобациллы, коринебактерии [6]. Доминирующими в количественном отношении были *H. pylori*, бактерии родов *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Prevotella*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*. Кроме роста УПМ, исследователи наблюдали повышение ферментативной активности выделенных штаммов. Ферменты патогенности определялись у большинства выделенных микроорганизмов и включали уреазу, гемолизин, казеиназу, РНК-азу, ДНК-азу и др. [6].

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования мы установили, что течение ЯБДК сопровождается повышением уровня системной эндотоксинемии и увеличением продукции АТ к представителям условно-патогенной и индигенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, что, возможно, является отражением участия соответствующих микроорганизмов и их антигенов в развитии язвенных поражений ДК или следствием поликлональной активации под действием ЭТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.В. Педиатрическая гастроэнтерология. Новейший справочник. М.: Эксмо, 2006: 331–355.
2. Бельмер С.В., Хавкин А.И. Гастроэнтерология детского возраста. М.: ИД Медпрактика, 2003: 97–151.
3. Цветкова Л.Н. Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки у детей – взгляд с позиции 30-летнего изучения проблемы. Вопр. дет. диетологии, 2004; 2: 42–46.
4. Цветкова Л.Н., Филлин В.А., Нечаева Л.В. и др. Язвенная болезнь у детей: особенности течения и выбора медикаментозной терапии на современном этапе. Рос. вестн. перинатологии и педиатрии, 2008; 53 (5): 36–42.
5. Щербаков П.Л., Нижевич А.А., Аморова В.Р. Антибиотик-ассоциированная диарея у детей: особенности коррекции микрофлоры. Вопр. практ. пед., 2010; 5 (5): 44–51.
6. Чернин В.В., Червинец В.М., Бондаренко В.М., Базлов С.Н. Язвенная болезнь, хронический гастрит и эзофагит в аспекте дисбактериоза эзофагогастродуоденальной зоны. Тверь: Триада, 2004.
7. Лиходед В.Г., Бондаренко В.М. Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника. М.: Медицина, 2007.
8. Мешков М.В., Гатауллин Ю.К., Иванов В.Б., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая агрессия как причина послеоперационных осложнений в детской хирургии (новые перспективы профилактики). М.: Московские учебники – СиДиПресс, 2007.
9. Лыкова Е.А., Бондаренко В.М., Воробьев А.А., Суджан Е.В. Бактериальная эндотоксинемия у детей с кишечными дисбактериозами. Микробиол., 1999; 3: 67–70.
10. Кочурко Л.И., Лиходед В.Г., Лобова Е.А. Показатели иммунитета к эндотоксину грамотрицательных бактерий при кишечном дисбактериозе. Микробиол., 1998; 5: 25–27.
11. Гуреев А.Н., Хромова С.С., Цветкова Л.Н. и др. Роль иммунных механизмов в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей. Педиатрия, 2006; 6: 30–32.
12. Гуреев А.Н., Цветкова Л.Н., Хромова С.С. Дисрегуляция иммунного ответа при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Вопр. дет. диетологии, 2009; 7 (2): 55–57.
13. Зинкевич О.Д., Аниховская И.А., Яковлев М.Ю. и др. Патент РФ № 2169367 («Микро-ЛАЛ-тест»). Способ определения активности эндотоксина. 2002.
14. Зинкевич О.Д., Сафина Н.А., Бондаренко В. М. и др. Особенности гуморального антибактериального иммунитета у детей раннего возраста с заболеваниями органов дыхания. Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1999; 2: 65–68.
15. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2003.
16. Чижиков Н.В., Лиходед В.Г., Светухин А.М. и др. Эндотоксин кишечной микрофлоры в клинике и патогенезе хронической ишемии нижних конечностей. Пенза: Изд-во ПГПУ, 2002.