

© Коллектив авторов, 2010

А.А. Камалова, Э.И. Угачина, О.Д. Зинкевич, Н.А. Сафина

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДКА И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОПРОФИЛЬТРАТОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

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

В статье представлены результаты изучения взаимосвязи между функциональным состоянием желудка (пепсиногена I и гастрин 17), антител класса IgG к *Helicobacter pylori* и иммуноглобулин-расщепляющей активностью микрофлоры кишечника детей с хронической гастродуоденальной патологией. Активность Ig-расщепляющих протеолитических ферментов в фекалиях детей с хронической гастродуоденальной патологией зависит от наличия антител к *H. pylori* и уровня гастрин 17 в сыворотке крови, что косвенно отражает связь между степенью нарушения микробиоценоза кишечника и кислотным потенциалом желудка, а также инфицированностью *H. pylori*.

Ключевые слова: Ig-расщепляющая активность копрофильтратов, протеолитическая активность фекалий, пепсиноген I, гастрин 17, гастродуоденит, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, дети, *H. pylori*.

Authors studied interrelations between functional state of stomach (pepsinogen I and gastrin 17 secretion), serum IgG antibodies to *Helicobacter pylori* and immunoglobulin-splitting activity of intestinal microflora in children with chronic gastroduodenal pathology. Activity of Ig-splitting proteolytic enzymes in stool of children with chronic gastroduodenal pathology depends of presence of antibodies to *H. pylori* and on level of serum gastrin 17 and this dependence indirectly reflects correlations between degree of intestinal dysbiosis, acidic potential of stomach and contamination by *H. pylori*.

Key words: Ig-splitting activity of coprofiltrates, proteolytic activity of stool, pepsinogen I, gastrin 17, gastroduodenitis, duodenal ulcer, children, *H. pylori*.

В течение последних десятилетий отмечается выраженная тенденция к повышению распространенности гастроэнтерологической патологии среди детей, которая занимает второе место в структуре детской заболеваемости [1].

Основным фактором, приводящим к развитию хронической патологии верхних отделов пищеварительного тракта (ВОПТ), является инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Известно, что при отсутствии лечения длительное персистирование *H. pylori* на слизистой оболочке желудка (СОЖ) может привести к атрофии последней [2]. «Золотым стандартом» в диагностике атрофичес-

кого гастрита (АГ) является эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) со взятием биоптата из различных отделов СОЖ. Для педиатрической практики актуальным является поиск скрининговых методов предварительной диагностики для выделения группы пациентов, нуждающихся в проведении биопсии. Существует альтернатива данному методу исследования: определение в сыворотке крови уровней пепсиногена I (ПГ I), гастрин 17 (Г 17), антител к *H. pylori*. С помощью определения этих параметров по анализу крови можно оценить функциональное состояние всей СОЖ, предположить наличие АГ. Возможность испол-

Контактная информация:

Камалова Аэлита Асхатовна – к.м.н., асс. 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 28.01.10, принята к печати 30.09.10.

зования данных маркеров является результатом десятилетних фундаментальных медицинских исследований, проведенных в Финляндии [3].

С целью оптимизации схем лечения не менее важным является вопрос выявления степени нарушений микроэкологии кишечника, возникающих вследствие патологии ВОПТ, неоднократно проводимых эрадикаций *H. pylori*, частого приема антацидных и антисекреторных препаратов. По данным литературы, дисбактериоз кишечника выявляется у 75–90% больных острыми и хроническими гастроэнтерологическими заболеваниями [4]. Важную роль в поддержании нормального микробиоценоза в кишечнике играет функциональное состояние желудка, а именно его кислотный и пептический потенциал [5]. Известно, что снижение кислотопродукции в желудке и, как следствие, уменьшение или исчезновение бактерицидных свойств желудочного сока может приводить к проникновению представителей условно-патогенной микрофлоры полости рта в нижележащие отделы пищеварительного тракта.

Имеются данные, что АГ часто сочетается с дисбактериозом кишечника [6]. Поэтому выявление взаимосвязи функционального состояния желудка и нарушений микрофлоры кишечника представляется важной проблемой, так как может позволить установить патогенетические механизмы формирования дисбактериоза, выделить детей с высоким риском его развития, своевременно провести профилактику и коррекцию нарушений. Своевременная диагностика инфекции *H. pylori* также необходима, так как эрадикация позволяет не только не допустить хронизацию патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), но и предотвратить развитие АГ, который с течением времени может развиваться у больных с хеликобактериозом.

Традиционно для выявления микроэкологических нарушений кишечника в нашей стране используется посев кала на дисбактериоз. К сожалению, общепринятое бактериологическое исследование кала отражает микробный состав полостной флоры лишь дистальных отделов кишечника. Данный метод не дает качественной характеристики микробиоценоза. Также в последнее время в литературе появляются сообщения, подтверждающие низкую диагностическую ценность исследования кала на дисбактериоз [7]. В настоящее время разработаны и апробированы скрининговые биохимические методы оценки состояния микробиоценоза кишечника по уровню протеолитической, иммуноглобулин (Ig)-расщепляющей активности фекалий [8, 9]. Возможность использования данных методов основана на том, что ряд исследований показал главенствующую роль бактерий в осуществлении протеолиза в толстой кишке [10], несмотря на то, что вклад в протеолитическую активность дистальных отделов

кишечника вносят также ферменты эндогенного происхождения [11].

По нашему мнению, в плане диагностики дисбиоза кишечника изучение Ig-расщепляющей активности микрофлоры представляется перспективным направлением, так как способность продуцировать данные ферменты считается фактором патогенности и может служить качественной характеристикой кишечной микробиоты [12, 13].

Целью нашего исследования явилось изучение зависимости Ig-расщепляющей активности микрофлоры кишечника от функционального состояния СОЖ и наличия инфекции *H. pylori* у детей с хронической гастродуоденальной патологией.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находились 56 детей с хронической гастродуоденальной патологией в возрасте от 7 до 17 лет, из них мальчиков – 19 (34%), девочек – 37 (66%). Диагноз устанавливали на основании клинико-анамнестических данных и результатов ЭГДС. Детей с неэрозивными гастродуоденитами (ГД) было 44 (78,6%), с эрозивными ГД – 7 (12,5%), с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) – 5 (8,9%).

Дети до 14 лет составили большинство больных – 44 (78,6%), среди них: 38 пациентов с неэрозивным ГД, 6 – с эрозивным ГД, 2 – с ЯБДПК. Среди больных старше 14 лет (всего 10 пациентов) у 6 диагностирован неэрозивный ГД, у одного – эрозивный ГД, у 3 – ЯБДПК.

Определение уровней пепсиногена I (ПГ1), постпрандиального гастрина 17 (ППГ17) и антител (АТ) класса IgG к *H. pylori* в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с использованием набора реагентов «GastroPanel» по протоколу производителя (Biohit, Финляндия).

Для определения показателей ПГ1 кровь у детей брали натощак (5 мл), для определения ПППГ17 – через 20 мин после приема напитка, содержащего 10 г белка. За 2 недели до исследования дети не получали антацидных, антисекреторных препаратов. Алгоритм диагностики и нормы для детей старше 14 лет рекомендованы фирмой производителем [14], нормы для детей младше 14 лет предоставлены сотрудниками факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Санкт-Петербургской государственной медицинской академии [15].

Для суждения об отклонении показателей мы использовали следующие нормы: ПГ1 у детей до 14 лет – 55–115 мкг/л, старше 14 лет – 50–150 мкг/л, ПППГ17 до 14 лет – 2,8–8,4 пмоль/л, старше 14 лет – 6–45 пмоль/л. Уровень АТ IgG к *H. pylori* ниже 38 ИФЕ говорил об отсутствии инфекции, выше или равный 38 ИФЕ – о наличии хеликобактериоза. Снижение функции главных клеток фундальных желез тела желудка мы предполагали при показателях ПГ1 ниже нормы, снижение функции желез в антральном отделе – при низких значениях (стимулированного) ПППГ17 и при наличии

Таблица 1

Активность Ig-расщепляющих ферментов в фекалиях детей в зависимости от уровня ПГ1 в сыворотке крови

Класс определяемых ферментов	Больные с ПГ1 ↓	Больные с ПГ1 N и ↑*	p
	1-я группа	2-я группа	
Общие, мг Ig/ч/г кала	9,414 (0,8331)**	9,103 (3,178–11,662)***	0,137
Металлозависимые, мг Ig/ч/г кала	1,11 (0–2,19)	0 (0–9,6)	0,832
Сериновые, мг Ig/ч/г кала	0 (0–4,296)	1,14 (0–7,53)	0,059
Тиоловые, мг Ig/ч/г кала	7,301 (2,306)	6,13 (0–10,09)	0,062

*В группу вошли 3 ребенка с ПГ1 выше нормы; здесь и в табл. 2 и 3: ** среднее (стандартное отклонение); *** медиана (минимум–максимум).

хеликобактериоза. Уровень ППГ17 > 0,1 пмоль/л считали нормальным при отрицательных титрах АТ IgG к *H. pylori*.

Для оценки состояния микробиоценоза кишечника использовали способ определения Ig-расщепляющей активности копрофильтратов на основе твердофазного иммуоферментного анализа [9]. Определяли общую активность и активность ферментов по классам активных центров (сериновые, тиоловые и металлозависимые). Кал для исследования собирали при поступлении в стационар до начала терапии.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы BIostatistica (S.A. Glantz, McGraw Hill), табличного редактора Microsoft Excel 2003. Данные, подчиняющиеся закону нормального распределения, представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения. Данные, не подчиняющиеся закону нормального распределения, представляли в виде медианы (медиана – значение, разделяющее распределение совокупности пополам, половина значений больше медианы, половина меньше или не больше) и крайних значений вариационного ряда. При сравнении количественных признаков двух совокупностей использовали критерий Манна–Уитни. Для оценки связи между признаками применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение

Исследования протеолитической активности фекалий по типам активных центров (металлозависимых, сериновых, тиоловых) у детей с гастродуоденальной патологией показали, что активность тиоловых ферментов у детей с поражением желудка и двенадцатиперстной кишки выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Так, у детей с неэрозивными, эрозивными ГД и ЯБДПК активность тиоловых протеиназ составила 9,37 (0–17,48), 11,65 (0–21,05) и 12,28 (1,17–28,58) мг Ig/ч/г кала, а в контрольной группе – 5,018 мг Ig/ч/г кала ($Me = 2,798$). К тому же активность тиоловых протеиназ возрастала по мере утяжеле-

ния патологии и статистически значимо отличалась у детей с неэрозивными ГД и ЯБДПК. Таким образом, нарушения кишечного микробиоценоза у гастроэнтерологических больных связаны с изменением активности именно тиоловых протеиназ.

В связи с поставленной целью мы оценили активность Ig-расщепляющих ферментов у детей со сниженными значениями ПГ1 (1-я группа) и показателями ПГ1 в пределах или выше нормы (2-я группа). Низкий уровень ПГ1 расценивали как показатель снижения функциональной активности главных клеток.

Статистически значимых различий в протеолитической активности фекалий у детей в зависимости от уровня ПГ1 в сыворотке крови не выявлено (табл. 1).

При сравнении Ig-расщепляющей активности ферментов у детей с уровнем ППГ17 в пределах и ниже нормы (1-я группа) и уровнями ППГ17 выше нормы (2-я группа) обнаружены более высокие уровни сериновых и низкие уровни тиоловых ферментов у детей с ППГ17 выше нормы (табл. 2).

Известно, что персистенция *H. pylori* способствует развитию выраженных изменений в микробиоценозе кишечника. Для ответа на вопрос, существует ли взаимосвязь инфицирования хеликобактером с активностью Ig-расщепляющих ферментов в фекалиях обследуемых пациентов, мы сравнили протеолитическую активность у детей, инфицированных *H. pylori* (1-я группа) и неинфицированных (2-я группа). У детей, инфицированных хеликобактером, выявлены статистически значимо более высокие показатели активности тиоловых ферментов (табл. 3).

Оценка связи между Ig-расщепляющей активностью фекалий и маркерами функционального состояния желудка обнаружила умеренную отрицательную корреляционную связь между уровнем ППГ17 и активностью тиоловых ферментов ($r = -0,532$; $p < 0,001$), умеренную положительную корреляционную связь между уровнями ППГ17

Таблица 2

Активность Ig-расщепляющих ферментов в фекалиях детей в зависимости от уровня ППГ17 в сыворотке крови

Класс определяемых ферментов	Больные с ППГ17 в N и ↓*	Больные с ППГ17 ↑	p
	1-я группа	2-я группа	
Общие, мг Ig/ч/г кала	9,36 (5,363–10,603)	7,791 (2,497)	0,157
Металлозависимые, мг Ig/ч/г кала	0 (0–9,6)	0,4 (0–2,579)	0,057
Сериновые, мг Ig/ч/г кала	0,01 (0–7,53)	1,941 (1,554)	0,034
Тиоловые, мг Ig/ч/г кала	8,31 (0–10,09)	5,067 (3,005)	0,016

*В группу вошли 4 ребенка с ППГ17 ниже нормы.

Таблица 3

Активность Ig-расщепляющих ферментов в фекалиях детей в зависимости от уровня IgG к *H. pylori*

Класс определяемых ферментов	IgG к <i>H. pylori</i> «+»	IgG к <i>H. pylori</i> «-»	p
	1-я группа	2-я группа	
Общие, мг Ig/ч/г кала	9,104 (1,309)	9,103 (3,178–10,759)	0,248
Металлозависимые, мг Ig/ч/г кала	0 (0–2,19)	0 (0–9,6)	0,658
Сериновые, мг Ig/ч/г кала	0,0105 (0–4,275)	1,085 (0–7,53)	0,221
Тиоловые, мг Ig/ч/г кала	7,79 (2,381)	6,214 (0–10,09)	0,048

и активностью сериновых, а также металлозависимых протеиназ ($r=0,411$; $p=0,002$ и $r=0,418$; $p=0,001$ соответственно).

По нашему мнению, низкая активность тиоловых ферментов при высоком уровне ППГ17 и обнаруженная обратная корреляционная связь между уровнем гастринина и тиоловыми протеиназами косвенно отражают зависимость степени нарушений микробиоценоза кишечника от кислотного потенциала желудка, поскольку гастрин является одним из самых мощных стимуляторов секреции соляной кислоты, а последняя, как известно, играет важную роль в поддержании нормального состояния микробиоценоза нижележащих отделов ЖКТ. Гастрин, секретируемый антральной частью желудка, более чем на 90% состоит из гастринина 17, и его стимулирующий эффект на секрецию HCl в 6 раз выше его других форм. К тому же в литературе имеются данные о том, что повышение гастринина в крови сочетается с желудочной гиперацидностью [16].

В свою очередь повышение активности сериновых протеиназ у детей с высоким уровнем ППГ17, положительные умеренные корреляционные связи ППГ17 и сериновых, металлозависимых ферментов можно объяснить тем, что гастрин обладает слабым холецистокининоподобным дейст-

вием на секреторную функцию поджелудочной железы [17] и, избыточно секретируемые ферменты поджелудочной железы (трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза) на фоне дисбактериоза могут проходить до нижних отделов кишечника в активной форме. Таким образом, изменение активности этих ферментов мы связываем с физиологией гастринина, а не с дисбиозом кишечника.

Нами выявлена умеренная положительная корреляционная связь между инфицированностью *H. pylori* и общей Ig-расщепляющей активностью ($r=0,336$; $p=0,012$), показателями активности тиоловых и металлозависимых ферментов ($r=0,42$; $p=0,001$ и $r=0,282$; $p=0,03$ соответственно). Повышение общей и тиоловой активности при хеликобактериозе, по всей видимости, отражает более выраженные изменения микробиоценоза кишечника у этих больных. Наши данные подтверждают ранее проведенные исследования, где показано, что при гастродуоденальной патологии, особенно у детей с хеликобактер-ассоциированными гастритами и ЯБДПК, выявляется системный дефицит лактобацилл, рост *E. coli* с измененными ферментативными свойствами, бактерий рода *Clostridium* и других условно-патогенных микроорганизмов [2, 18]. У детей с длительно текущим хеликобактериозом при проведении антибакте-

риальной терапии наблюдается угнетение бифидофлоры с нарастающим ростом условно-патогенных бактерий [18]. Возрастное активное металлозависимых ферментов у детей с хеликобактериозом, возможно, связано с влиянием микроорганизма на функцию поджелудочной железы. В литературе имеются данные, что у лиц, инфицированных *H. pylori*, отмечается более высокая секреция ферментов поджелудочной железы [17]. Кроме того, при хеликобактериозе у детей нарушаются барьерные функции слизистых оболочек ЖКТ, снижается концентрация sIgA в биологических материалах, что может способствовать бактериальной инвазии слизистых оболочек желудка и кишечника [18].

Таким образом, возникает «порочный круг»: хеликобактериоз приводит к нарушению микроэкологии кишечника, приводя к нарушению синтеза sIgA и его усиленному разрушению бактериальными протеазами вследствие дефицита

нормальной и роста условно-патогенной флоры, а снижение sIgA, в свою очередь, может способствовать инфицированию *H. pylori*.

Мы не установили корреляционной связи между уровнями ПП1 и показателями Ig-протеолитической активности фекалий. Отсутствие связи между активностью протеолитических ферментов с уровнем ПП1, возможно, говорит о главенствующей роли именно соляной кислоты желудка в поддержании нормального микробиоценоза.

Заключение

Таким образом, активность Ig-расщепляющих протеолитических ферментов в фекалиях детей с хронической гастродуоденальной патологией зависит от наличия *H. pylori* и уровня ПП17 в сыворотке крови, что косвенно отражает связь между степенью нарушения микробиоценоза кишечника и кислотным потенциалом желудка, а также инфицированностью *H. pylori*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Педиатрия: учебник для мед. ВУЗов. 4-е изд. Под ред. Н.П. Шабалова. СПб.: СпецЛит, 2007.
2. Корсунский А.А., Щербаков П.Л., Исаков В.А. Хеликобактериоз и болезни органов пищеварения у детей. М.: Медпрактика, 2002.
3. Суовониеми О. Использование тестовой панели «Gastro Panel» при скрининге, диагностике и профилактике ряда заболеваний [электронный ресурс]. Электрон. текстовые дан. Режим доступа: http://www.biohit.ru/pj_files/gastropanel.
4. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А. Дисбактериоз кишечника. СПб.: Питер, 2008.
5. Ильченко А.А., Коршунов В.М., Аруин Л.И. и др. Микрофлора кишечника и кислотообразующая функция желудка у больных язвенной болезнью с пилорическим хеликобактериозом. Ж. микробиологии, 1991; 10: 17–19.
6. Гаян Л.В. Микроэкологические нарушения в патогенезе заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2000.
7. Барсук А.Л., Сумина А.В., Кузин В.Б., Козлов Р.С. Практическое обоснование низкой диагностической ценности микробиологического исследования кала на дисбактериоз. Вопр. диагностики в педиатрии, 2009; 2: 7–11.
8. Горская Е.М., Бондаренко В.М., Шогенова Ю.С. и др. Протеолитическая активность содержимого толстой кишки в норме и при микроэкологических нарушениях. Ж. микробиологии, 1995; 3: 116–120.
9. Зинкевич О.Д., Бондаренко В.М., Тюрин Ю.А. и др. Клинико-диагностическое значение оценки активности Ig-протеаз у детей с дисбактериозом кишечника. Микробиология, 2004, 3: 73.
10. Gibson SA, McFarlan C, Hay S, MacFarlane GT. Significance of microflora in proteolysis in the colon. Appl. Environ. Microbiol., 1989; 55 (3): 679–683.
11. Borgstrom A, Genell S, Ohlsson K. Elevated fecal levels of endogenous pancreatic endopeptidases after antibiotic treatment. Scand. J. Gastroenterol., 1977; 12 (5): 525–529.
12. Kilian M, Reinholdt J, Lomholt H, et al. Biological significance of IgA1 proteases in bacterial colonization and pathogenesis: critical evaluation of experimental evidence. APMIS, 1996; 104: 321–338.
13. Mistry D, Stockley RA. IgA1 protease. Int. J. Biochem. Cell Biol., 2006; 38 (8): 1244–1248.
14. Di Mario F, Franze A, Cavallaro LG. Non-invasive diagnosis for gastric diseases. OGM, Milano, 2004.
15. Игуменова Е.Л. Особенности гастродуоденальной патологии, ассоциированной с инфекцией НР у детей с отягощенной наследственностью: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 2006.
16. Кислотозависимые состояния у детей. Под ред. В.А. Таболина. М.: Российская гастроэнтерологическая ассоциация, 1999.
17. Маев И.В. Современные представления о заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ассоциированных с *Helicobacter pylori*. Тер. архив, 2006; 2: 10–15.
18. Лыкова Е.А. Клинико-иммунологическая характеристика нарушения микробиоценоза пищеварительной системы у детей с хронической гастроинтестинальной патологией и возможности их коррекции: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1995.