

## СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Зайцева Л.Ю., Калуцкий П.В., Хмелевская И.Г.

*ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail luda201235@yandex.ru*

Проведен анализ течения острых кишечных инфекций (ОКИ) бактериальной этиологии у детей раннего возраста, при этом оценивалась тяжесть течения инфекции, сроки поступления больных в стационар, выраженность диспептического, интоксикационного и воспалительного синдромов, исследовалось состояние прооксидантной системы крови и уровни цитокинов (ИЛ-6 и ИЛ-10). В ходе исследования выявлено, что у большинства больных инфекция протекала в среднетяжелой форме, с выраженными проявлениями интоксикации и диспепсии. У всех пациентов на фоне ОКИ отмечалось достоверное по сравнению с контрольной группой повышение уровня ТБК-активных продуктов, щелочной фосфатазы, ИЛ-6 и ИЛ-10. Каких-либо достоверных отличий изучаемых показателей в зависимости от этиологического фактора выявить не удалось, однако максимальная активация прооксидантной системы, а также наибольшее содержание ИЛ-6 и ИЛ-10 обнаружено у больных с ОКИ, вызванными условно-патогенной флорой.

Ключевые слова: дети, острые кишечные инфекции, цитокины, прооксидантная система крови.

## THE STATE OF PROOXIDANT SYSTEM AND THE CONTENT OF CYTOKINES IN CHILDREN WITH ACUTE INTESTINAL INFECTIONS OF DIFFERENT ETIOLOGY

Zaitseva L.Y., Kalucki P.V., Khmelevskaya I.G.

*Kursk State Medical University, Kursk, e-mail luda201235@yandex.ru*

The analysis of acute intestinal infections of bacterial etiology in early age children was done, this was estimated severity of infection, the time of admission of patients to hospital, severity of diarrheal, intoxication and inflammatory syndromes, we investigated the status of prooxidant system and concentration of cytokines (IL-6 and IL-10) in blood. In our research revealed that in most patients the infection proceeded in moderate form, with pronounced intoxication symptoms and dyspepsia. In all patients with there was registrated statistically significant compared with the control group the increase in the level of TBA-active products, alkaline phosphatase, IL-6 and IL-10. Any significant differences of the studied parameters depending on the etiological factor could not be detected, however, the maximum activation of prooxidant system and the greatest content of IL 6 and IL 10 was detected in patients with acute gastro-intestinal infections caused by conditionally pathogenic flora.

Keywords: children, acute intestinal infections, cytokines, Pro-oxidant system of the blood.

Заболеемость острыми кишечными инфекциями (ОКИ) у детей по-прежнему остается на высоком уровне. В последние годы в структуре ОКИ преобладают вирусные диареи. Около 80 % всех кишечных инфекций вызвано вирусами, однако, не следует недооценивать роль бактериальных патогенов в развитии диарейных заболеваний инфекционной природы. Среди бактериальных ОКИ основная роль принадлежит сальмонеллам и шигеллам, а в последние годы значительно возросла роль условно-патогенной флоры как этиологического фактора ОКИ.

Несмотря на значительные успехи в диагностике, лечении и профилактике ОКИ, они продолжают играть часто определяющую роль в развитии хронической патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Являясь триггерным фактором нарушения микроэкологии кишечника, ОКИ способны вызывать отдаленные последствия с

возникновением предпосылок к формированию мультисистемной патологии, особенно в детском возрасте [2]. Поражая ЖКТ, патогенные микроорганизмы индуцируют местные и системные воспалительные реакции, значительно изменяя состав кишечной микрофлоры [3].

Так, например, изменения уровней цитокинов в крови детей с острыми инфекциями являются показателем активации иммунокомпетентных клеток в ответ на бактериальное воспаление и позволяют более точно диагностировать вирусные и бактериальные инфекции [6]. По имеющимся литературным данным при сальмонеллезе наблюдается повышение содержания ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови. Установлено, что высокий уровень ИЛ-6 сопровождает осложненные формы инфекции, а низкий уровень ИЛ-10 – обострение заболевания [4]. Содержание ИЛ-10 зависит от этиологии и тяжести течения инфекционного процесса при сальмонеллезной инфекции [5].

Если ранее при сальмонеллезах изучался преимущественно гуморальный иммунный ответ, то в последние годы появились данные о генетической предрасположенности к заболеванию сальмонеллезами, а именно – наличие антигена HLA-B27 может сделать людей более восприимчивыми к сальмонеллезной инфекции. Появились работы о механизмах взаимодействия сальмонелл с фагоцитами; о роли цитокинов, о значении местного иммунитета при этой инфекции [1]. Существуют данные о тесной корреляционной связи между содержанием цитокинов и уровнем антител к *H. pylori* [7].

С целью определения прогноза и исходов заболевания определенный интерес представляет изучение цитокинового статуса и состояния прооксидантной системы крови у детей на фоне ОКИ бактериальной этиологии.

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находилось 45 пациентов с острыми кишечными инфекциями в возрасте от 1 до 3 лет, находившихся на стационарном лечении в ОБУЗ «ОКИБ им. Н.А. Семашко» г. Курска в 2013–2014 гг. Группу контроля составили здоровых 36 детей раннего возраста (группа здоровья 1-2а). У всех детей исследуемой группы проводилось стандартное обследование, включавшее: сбор жалоб и анамнеза, клиническое обследование больного, проводились общий анализ крови и мочи, исследование кала на яйца глист, перианальный соскоб на энтеробиоз, копрологическое исследование, трехкратное бактериологическое исследование кала на дизентерийную группу, сальмонеллы, патогенные *E. coli* и условно-патогенную флору, исследование кала на обнаружение ротавирусов методом ИФА, исследование сыворотки крови методом РПГА с дизентерийным и сальмонеллезным диагностикумами. Копрологическое и бактериологическое исследования проводились сразу после поступления больного в стационар до назначения антибактериальных препаратов. Всем больным проводилась стандартная терапия, включавшая диету, нормализацию режима и объема питания, антибактериальные средства,

ферментные препараты, энтеросорбенты, спазмолитики, витамины, эубиотики. Повторное обследование проводилось детям после лечения перед выпиской из стационара.

Уровень интерлейкинов 6 и 10 определяли в сыворотке крови детей методом твёрдофазного иммуоферментного анализа (ИФА) с использованием унифицированных тест-систем «Вектор-Бест» (производство ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) и ProCon (производства НПО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург).

Продукты перекисного окисления липидов определяли спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой с использованием унифицированного набора реактивов для определения ТБК-активных продуктов при длине волны 535 и 570 нм в кювете с толщиной слоя 1 см [UchiyamaM., MiharaM. 1978; MiharaM., 1980].

Расчет содержания ТБК-активных продуктов проводили по формуле:

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \times 16,$$

где: C – содержание ТБК-активных продуктов в опытной пробе (мкмоль/л);

$D_{535}$  – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм;

$D_{570}$  – оптическая плотность опытной пробы при 570 нм;

0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса малоновый альдегид – ТБК (л/мкмоль/см);

16 – коэффициент разведения сыворотки.

Определение щелочной фосфатазы в сыворотке крови проводилось стандартным методом, предложенным Скандинавским комитетом по ферментам, в реакции с 4-нитрофенилфосфатом с помощью автоматического биохимического анализатора. Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней арифметической (M) и средней ошибки средней (m) с помощью программного комплекса «Microsoft® Office 2010» и «SPPSS 11.5 forWindows» для IBMPC. Достоверность различий сравниваемых показателей определяли с помощью t критерия Стьюдента.

### **Результаты и обсуждение**

Клинически у всех детей на фоне ОКИ наблюдались проявления интоксикации, желудочно-кишечной диспепсии, диарейный синдром. Большинство детей перенесли среднетяжелую инфекцию (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ тяжести течения ОКИ у детей

Тяжесть заболевания	Количество случаев	
	абсолютное	относительное, %
Среднетяжёлая инфекция	36	80
Тяжёлая инфекция	5	11
Тяжёлая инфекция, осложнённая токсикозом с эксикозом I–II степени	4	9

Помимо тяжести течения инфекционного процесса нами оценивались срок госпитализации больных от начала заболевания, сроки нормализации температуры тела и стула. Поздняя госпитализация наблюдалась у 12 детей. Дети были доставлены в стационар на 5–10 дни от начала заболевания.

Этиологическая структура ОКИ у детей в г. Курске представлена следующим образом: 16 детей с диагнозом острая дизентерия, 16 – с диагнозом сальмонеллёз, 5 – с ОКИ, вызванными условно-патогенной флорой, а у 8 – зарегистрирована ОКИ неясной этиологии. Средняя продолжительность пребывания больных в стационаре составила 9 койко-дней.

Течение инфекционной патологии в г. Курске имело свои особенности. Сальмонеллёзная инфекция у курских детей была вызвана преимущественно *S. enteritidis*. Клиническая картина сальмонеллёза у детей в г. Курске характеризовалась следующим: преобладанием среднетяжелых форм течения инфекционного процесса, поздней обращаемостью (на 5–10 дни от начала болезни) у 31 % больных. Поздняя нормализация стула наблюдалась более чем у половины больных, при этом часто сочеталась с поздней обращаемостью. Выраженные воспалительные изменения при копрологическом исследовании не были характерными клиническими особенностями сальмонеллеза у детей, живущих в регионе с фоновыми значениями геомагнитного поля, т.к. встречались лишь у 1/4 обследованных.

Структура шигеллезов у детей в г. Курске представлена следующим образом: *S. sonnei* была выделена от 3 больных, *S. flexneris* серовар 2a – от 8 больных, серовар 3a – от 2 больных, у 1 ребенка выделен серовар 6 (Ньюкастл) и у 2 детей диагноз был поставлен клинко-серологически, без бактериологического подтверждения.

У большинства детей во время течения инфекционного процесса наблюдались выраженные диспепсические изменения (тошнота, рвота, частый жидкий стул, боли в животе, потеря аппетита), при этом у половины заболевание сопровождалось воспалительными изменениями, зарегистрированными при микроскопическом исследовании кала (копрология). Данные изменения заключались в обнаружении значительного количества слизи, лейкоцитов, а иногда и эритроцитов в стуле. У большинства детей температура тела

становилась нормальной не позднее 3 дней от начала лечения, ранняя нормализация стула (1-й – 3-й дни с момента госпитализации) наблюдалась у 28,8 % больных в данной группе (табл. 2).

Таблица 2

Клинические особенности течения ОКИ различной этиологии у детей г. Курска

Клинический признак	ОКИ все (n=45)		Сальмонеллез (n=16)		Шигеллез (n=16)		ОКИ УП (n=5)		ОКИ НУЭ (n=8)	
	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)
Выраженные проявления диспепсии	31	68,8	10	62,5	9	56,2	4	80	8	100
Нормализация стула на 1–3 сутки	13	28,8	7	43,7	2	12,5	0	0	4	50
Нормализация t° тела на 1–3 сутки	34	75,5	12	75	11	68,8	3	60	8	100
Выраженные воспалительные явления в копрограмме	23	51,1	6	37,5	10	62,5	3	60	4	50

Состояние прооксидантной системы крови является одним из прогностических факторов течения инфекционного заболевания. Образующиеся в процессе перекисного окисления липидов (ПОЛ) ненасыщенные альдегиды и малоновый диальдегид, являются мутагенами и обладают выраженной цитотоксичностью. Положительная роль перекисных процессов заключается в продукции биоцидных кислородных радикалов полиморфноядерными лейкоцитами и макрофагами.

Для оценки степени активации процессов ПОЛ нами определялось содержание продуктов, вступающих в реакцию с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) – ТБК-активных веществ. Имеющиеся литературные данные позволяют сделать вывод об активации процессов свободнорадикального окисления липидов у больных кишечными инфекциями. Также для больных ОКИ характерно повышение щелочной фосфатазы (ЩФ) за счет кишечного изофермента.

При определении активности ПОЛ у детей нами было отмечено возрастание концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови в период разгара ОКИ (табл. 3).

Таблица 3

Состояние некоторых показателей прооксидантной системы крови у детей с ОКИ

Диагноз	ТБК-активные продукты (мкмоль/л)	Щелочная фосфатаза (Ед/л)

ОКИ в целом	10,3±0,4*	434,7±18,8*
Сальмонеллёз	11,1±0,6*	446,2±41,1*
Шигеллёз	9,8±0,7*	418,3±30,2*
ОКИ УП	10,8±0,8*	451,0±56,9*
ОКИ НУЭ	9,8±0,8*	440,5±24,5*
Контроль	4,5±0,5	286,3±38,1

Примечание: \* – различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,05$ ).

Концентрация ТБК-активных продуктов в сыворотке крови больных детей достоверно отличалась от значений здоровых лиц, но различий в зависимости от этиологии инфекции получено не было. Те же закономерности прослеживались при анализе содержания ЩФ. Концентрация щелочной фосфатазы у больных была достоверно выше по сравнению со здоровыми детьми, но не выходила за пределы общепринятых нормативов (100-650 Ед/л).

Одними из регуляторов специфического иммунного ответа являются интерлейкины, которые обуславливают прямое действие на функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Их синтез осуществляется лимфоидными и нелимфоидными клетками. Липополисахариды грамотрицательных бактерий способны индуцировать синтез провоспалительных цитокинов, к которым относится ИЛ-6. Ведущая роль в инициации и поддержке иммунного ответа принадлежит врождённым факторам иммунной защиты. Однако функционирование этих факторов во многом зависит от способности клеток продуцировать цитокины, обладающие иммунорегуляторным действием. ИЛ-6 и ИЛ-10 оказывают про- и противовоспалительное действие соответственно, и, таким образом, дисбаланс в экспрессии этих групп цитокинов может оказывать влияние на течение инфекционного процесса у детей. С целью оценки динамики продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов нами проводилось исследование содержания ИЛ-6 и ИЛ-10 в сыворотке крови детей с острыми кишечными инфекциями (табл. 4).

Таблица 4

Содержание интерлейкинов у детей на фоне ОКИ

Диагноз	ИЛ-6 (пг/мл)	ИЛ-10 (пг/мл)
ОКИ в целом	10,5±1,1*	3,8±0,1*
Сальмонеллез	12,6±0,8*	3,75±0,2
Шигеллез	8,1±0,4	3,8±0,2
ОКИ УП	13,6±0,6*	3,96±0,1*
ОКИ НУЭ	10,2±0,4*	3,9±0,2*

Контроль	7,8 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,1
----------	---------------	---------------

Примечание: \* – различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,05$ ).

Из данных, приведенных в таблице 4, видно, что при развитии острой кишечной инфекции у детей увеличивается содержание ИЛ-6 в сравнении с группой здоровых. Продукция ИЛ-10 на фоне инфекции также возрастает, однако это увеличение незначительно. Достоверных различий в продукции интерлейкинов в зависимости от инфекционного агента внутри группы ОКИ получено не было, за исключением шигеллёза (ИЛ-6) и шигеллёза, сальмонеллёза (ИЛ-10). Максимальные значения ИЛ-6 отмечались при сальмонеллёзе и ОКИ, вызванными условно-патогенной флорой. При этом при сальмонеллёзе выявлены минимальные, а при ОКИ УП – максимальные концентрации ИЛ-10.

### **Заключение**

На основании полученных результатов можно заключить, что в остром периоде ОКИ отмечается значительная активация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ). Концентрация продуктов ПОЛ достоверно превышает значения, полученные в группе контроля. При этом мы не получили достоверных различий взаимосвязи повышения продуктов ПОЛ и этиологии заболевания, однако, наибольшая концентрация ТБК-активных продуктов регистрировалась у больных с сальмонеллезом. Продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-6) повышается. Содержание ИЛ-6 у детей с ОКИ УП значительно превышало средние показатели по группе больных детей в целом. Достоверное же повышение концентрации противовоспалительных медиаторов (ИЛ-10) регистрировалось в общей группе больных ОКИ детей в основном за счет пациентов с ОКИ УП и ОКИ НУЭ.

### **Список литературы**

1. Голубев А.О., Милютин Л.Н. Современные данные об особенностях иммунного ответа при сальмонеллезах // Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8. – № 2. – С.62-67.
2. Зайцева Л.Ю., Калущий П.В. Клинико-иммунологические особенности течения острых кишечных инфекций у детей раннего возраста, проживающих на территории Курской магнитной аномалии // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 3. – 1. – С. 66.
3. Калущий П.В., Медведева О.А., Зайцева Л.Ю. Анализ заболеваемости острыми кишечными инфекциями различных возрастных групп регионов с повышенным и фоновым

уровнями напряженности геомагнитного поля // Бюллетень Оренбургского научного центра УРО РАН, 2012. – № 3. – С.9.

4. Касымов И.А., Шарапова Г.М. Клинико-иммунологические аспекты сальмонеллеза *Typhimurium* детей // Инфекционные болезни. – 2011. – Т.9. – № 1. – С.42-46.

5. Мартынова Н.Н. Динамика содержания цитокинов и газового состава крови больных сальмонеллезом и острым шигеллезом // Терапевтический архив, 2006. – Т. 78. – № 11. – С.24-26.

6. Смирнов И.Е. Цитокиновый профиль при бактериальной и вирусной инфекции у детей // Российский педиатрический журнал. – 2014. – Т.17. – № 4. – С.14-19.

7. Щербак В.А., Витковский Ю.А. Значение цитокинов в патогенезе хронического гастродуоденита, ассоциированного с *H. PYLORY*, у детей // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского, 2005. – Т. 84. – № 5. – С.11-13.