

## ИЗМЕНЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С КЕТОАЦИДОЗОМ, БОЛЬНЫХ АЦЕТОНЕМИЧЕСКОЙ РВОТОЙ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Демидов Александр А.<sup>1</sup>, Башкина О.А.<sup>1</sup>, Демидов Алексей А.<sup>1</sup>, Шварц Р.Н.<sup>2</sup>, Макаров В.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ Астраханский ГМУ Минздрава России, Астрахань, e-mail: daa2@bk.ru;

<sup>2</sup>ЧУЗ «Медико-санитарная часть», Астрахань, e-mail: romanshvartz@gmail.com;

<sup>3</sup>ГБУЗ АО «Областная детская клиническая больница им. Н.Н. Силищевой», Астрахань

---

С целью изучения активности моноцитов крови у детей с кетоацидозом, больных ацетонемической рвотой (АР), и детей с кетоацидозом, больных сахарным диабетом (СД), в зависимости от пола было обследовано 75 детей с кетоацидозом, больных АР, и 73 ребенка с кетоацидозом, больных СД, в возрасте от 3 до 7 лет. Контрольную группу составили 58 здоровых детей, соответствующих по половому и возрастному критериям основной группе. Методом цитохимического анализа изучалась активность метаболитических ферментов в моноцитах крови. Определяли количество реагирующих клеток, а также качество, применяя классификацию степеней активности ферментов: «а» – низшая, «б» – средняя и «в» – высшая. В моноцитах детей с кетоацидозом, больных АР, активность метаболитических ферментов была снижена по сравнению с нормой независимо от пола. Как у мальчиков, так и у девочек средний цитохимический показатель реакций формировался исключительно клетками низкой степени активности. В моноцитах детей с кетоацидозом, больных СД, ферментативная активность была выше таковой в норме. Отмечалось различие качественного состава активных клеток в зависимости от пола детей.

---

Ключевые слова: моноциты, ферментативная активность, кетоацидоз, ацетонемическая рвота, сахарный диабет

## THE CHANGES OF METABOLIC ACTIVITY OF BLOOD MONOCYTES IN CHILDREN WITH KETOACIDOSIS WITH ACETONEMIC VOMITING AND DIABETES

Demidov Aleksandr A.<sup>1</sup>, Bashkina O.A.<sup>1</sup>, Demidov Aleksey A.<sup>1</sup>, Shvarts R.N.<sup>2</sup>, Makarov V.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FGBOU Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: daa2@bk.ru;

<sup>2</sup>CHUZ «Medical part», Astrakhan, e-mail: romanshvartz@gmail.com;

<sup>3</sup>GBUZ AO «Regional Children's Clinical Hospital named after N.N. Silishcheva», Astrakhan

---

In order to study the activity of blood monocytes in children with ketoacidosis and acetonemic vomiting (AV) and children with ketoacidosis and diabetes, depending on gender, 75 children with ketoacidosis and AV and 73 children with ketoacidosis and diabetes aged from 3 to 7 years were examined. The control group consisted of 58 healthy children corresponding to the sexual and age composition of the main group. The activity of metabolic enzymes in blood monocytes was studied by cytochemical analysis. The number of reacting cells was determined, as well as the quality, using the classification of the degrees of enzyme activity: «a» – lower, «b» – medium and «b» – higher. In monocytes of children with ketoacidosis and AV the activity of metabolic enzymes was reduced in comparison with the norm, regardless of gender. In both boys and girls, the average cytochemical index reactions were formed exclusively by cells of the lowest degree of activity. In monocytes of children with ketoacidosis, and diabetes, enzymatic activity was higher than that in normal. The difference in the qualitative composition of active cells depending on the gender of children was showed.

---

Keywords: monocytes, enzymatic activity, ketoacidosis, acetonemic vomiting, diabetes

Среди различных методов, используемых в настоящее время для изучения нарушений клеточного метаболизма в педиатрии, в наименьшей степени используются тесты, характеризующие ферментативную активность иммунокомпетентных клеток крови [1]. В современной литературе недостаточно внимания уделяется изучению показателей цитохимической активности нейтрофилов и моноцитов, положительно зарекомендовавших

себя в качестве информативных инфекционных прогностических критериев при ряде клинических ситуаций, преимущественно в клинике болезней [2–4]. Характер и развитие воспалительного процесса значительным образом определяют клетки макрофагальной системы, прежде всего моноциты крови и тканевые макрофаги [5]. Нормальное функционирование защиты иммунологических механизмов одноядерных фагоцитов является решающим фактором как иммунологических, так и неиммунологических механизмов защиты макроорганизма [6]. Эти клетки осуществляют фагоцитоз микроорганизмов и клеточных фрагментов, секрецию медиаторов воспаления, нефагоцитарную элиминацию определенных клеток (например, опухолевых), регуляцию иммунного ответа посредством взаимодействия с антигеном и лимфоидными клетками, а также другие функции, имеющие отношение к той ткани, в которой локализуются зрелые одноядерные клетки [7-9].

Цель исследования: изучение активности моноцитов крови у детей с кетоацидозом, больных ацетонемической рвотой (АР), и детей с кетоацидозом, больных сахарным диабетом (СД), в зависимости от пола.

**Материалы и методы исследования.** Было проведено полное клиническое и лабораторное исследование 75 пациентов в возрасте от 3 до 7 лет с кетоацидозом при ацетонемической рвоте и 73 детей с кетоацидозом, больных сахарным диабетом, отобранных методом простой рандомизации, которые находились на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии № 2 ГБУЗ «Областная детская клиническая больница им. Н.Н. Силищевой» г. Астрахани. В качестве контроля обследовались 58 здоровых детей, соответствующих по половому и возрастному критериям основной группе.

Диагноз ацетонемической рвоты устанавливали на основании анамнестических данных, выраженных клинических проявлений, данных лабораторных методов обследования. Критерии диагностики оценивались в соответствии с действующими временными отраслевыми стандартами. По данным действующей международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ 10) АР шифровался как R.11 – «тошнота и рвота».

Диагноз сахарного диабета был выставлен на основании Федеральных клинических рекомендаций (протоколов) по ведению детей с эндокринными заболеваниями [10]. Цитохимические исследования проводили на венозной крови детей (5 мл). Моноциты получали методом И.С. Фрейдлин путем выделения фракции при центрифугировании с применением градиента «Фиколл-пак» (Farmacia, Швеция). В моноцитарных мазках выявляли активность метаболических ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). Все реакции осуществлялись по методике Р.П. Нарциссова [5]. Оценка результатов цитохимических

реакций проводилась в световом микроскопе полуколичественным методом Kaplow.

В 100 нейтрофилах выявляли число гранул цитохимически активного вещества, выпавшего в осадок. В зависимости от числа гранул определяли качественную степень реакции клетки. Устанавливали, сколько активных клеток среди 100 подсчитанных, а также степень активности каждой клетки. Клетки без гранул классифицировались как имеющие нулевую степень активности. Если гранулы цитохимически активного вещества занимали до 25% цитоплазмы, данная клетка определялась как имеющая низшую степень активности и получала степень «а». Если гранулы цитохимически активного вещества занимали от 30 до 70% цитоплазмы, то активность клетки классифицировалась как средняя и получала степень «б». К высшей степени активности – степени «в» – относили клетки, цитоплазма которых была заполнена цитохимически активным веществом на 70–100%. Далее провели подсчет среднего цитохимического показателя (СЦП), который определяли по формуле:  $СЦП = a + 2б + 3в$ . Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Для каждого показателя и групп наблюдений вычисляли медиану, 5-й и 95-й перцентили. Поскольку в большинстве групп признаки имели отличное от нормального распределение, то для проверки статистических гипотез при сравнении числовых данных двух несвязанных групп применяли U-критерий Манна-Уитни. За критический уровень статистической значимости принимали 5% ( $p = 0,05$ ).

**Результаты исследования и их обсуждение.** При исследовании активности метаболических ферментов в нейтрофилах крови здоровых детей были выявлены некоторые (гендерные) особенности у мальчиков и девочек.

В моноцитах здоровых мальчиков самая высокая активность отмечалась со стороны ЛДГ (СЦП ЛДГ=66,02 у.е.), активность Г-6-ФДГ была несколько ниже (СГ-6-ФДГ = 62,02 у.е.). Самая низкая активность отмечалась со стороны СДГ (СЦП СДГ= 42,04 у.е.). Качественный анализ реагирующих клеток показал, что СЦП всех трех исследуемых ферментов были сформированы клетками средней степени активности (степень «б»). Клетки степеней «а» и «в» не встречались (табл. 1).

Таблица 1

Активность СДГ в моноцитах детей с АР и СД

Показатели	Мальчики				Девочки			
	АР (n=30)		СД (n=32)		АР (n=45)		СД (n=41)	
	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД
СЦП	42,04 [2,10; 39,93]	34,72 [1,73; 32,98]	64,14 [3,20;60,9 3]	92,2 * [4,61 ; 87,5]	28,04 [1,40; 26,63]	14,12* [0,70; 13,41]	32,14 [1,60; 30,53 ]	47,12* [2,35;44 ,76]

				9]				
% реак. клето к	21,02 [1,05; 19,96]	34,72 1,73; 32,98]	32,03 [1,60;30,4 2]	92,2 [4,61 ; 87,5 9]	14,02 [0,70; 13,31]	14,12 [0,70; 13,41]	16,11 [0,80; 15,30]	47,12* [2,35; 44,76]
«а»	0	34,72 [1,73; 32,98]	0	92,2 [4,61 ; 87,5 9]	0	14,12 [0,70; 13,41]	0	47,12* [2,35; 44,76]
«б»	21,02 [1,05; 19,96]	0	32,03 [1,60;30,4 2]	0	14,02 [0,70; 13,31]	0	16,11 [0,80; 15,30]	0
«в»	0	0	0	0	0	0	0	0

\* $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми

У здоровых девочек метаболическая активность моноцитов была несколько меньше, чем у здоровых мальчиков. Наибольшая активность была выявлена в отношении Г-6-ФДГ (СЦП Г-6-ФДГ = 42,02 у.е.). Активность анаэробного гликолиза была несколько меньше (СЦП ЛДГ = 34,02 у.е.). Самая низкая активность отмечалась в отношении цикла Кребса (СЦП СДГ = 28,04 у.е.). Так же, как у мальчиков, СЦП активности всех трех ферментов в моноцитах были сформированы клетками степени «б» ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми)

У мальчиков с кетоацидозом, больных АР, при анализе активности сукцинатдегидрогеназы в моноцитах количество положительно реагирующих клеток составляло 34,72 [1,73;32,98] %, что было выше в 1,6 раза по сравнению со здоровыми мальчиками. В то же время все реагирующие клетки при данной реакции были низшей степени активности (степень «а»), что и дало средний цитохимический показатель, равный 34,72 [1,73; 32,98] у.е., что в 1,2 раза ниже такового у здоровых мальчиков ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми мальчиками).

Активность цикла Кребса у мальчиков с кетоацидозом, больных СД, не только не была угнетенной, как у мальчиков с АР, но даже несколько превышала нормальные показатели.

(СЦП<sub>сд</sub> = 45,36 [2,26;43,09]у.е.; СЦП<sub>н</sub>=42,04 [2,10;39,93] у.е.) ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми мальчиками и мальчиками с кетоацидозом, больными АР).

Несмотря на то что количественные различия активности СДГ между мальчиками трех групп (здоровые, с АР и с СД) достаточно показательны, основное различие заключалось в качественном перераспределении реагирующих клеток.

Если СЦП реакции в моноцитах здоровых мальчиков формировался только клетками средней степени активности (степень «б»), то у мальчиков с кетоацидозом, больных АР,

средний цитохимический показатель формировался уже клетками низшей степени активности (степень «а»). В то же время у мальчиков с СД СЦП реакции был сформирован только клетками высшей степени активности (степень «в»). Соответственно, процент реагирующих клеток у мальчиков с СД был весьма низким ( $\%_{\text{СД}}=15,12 [1,25;23,86] \%$ ;  $\%_{\text{N}}=21,02 [1,05;19,96] \%$ ) ( $p<0,05$  при сравнении со здоровыми мальчиками и мальчиками с АР).

В моноцитах девочек с кетоацидозом, больных АР, средний цитохимический показатель активности СДГ был снижен практически в 2 раза ( $\text{СДГ}_{\text{АР}}=14,12 [0,70;13,41]$  у.е.) по сравнению с нормой ( $\text{СДГ}_{\text{N}}=28,04 [1,40;26,63]$  у.е.) ( $p<0,05$  при сравнении со здоровыми девочками).

Реагирующих клеток при постановке реакции СДГ у девочек с АР было столько же, как и у здоровых девочек:  $14,02 [0,70;13,31] \%$  у здоровых,  $14,12 [0,70;13,41] \%$  у больных АР ( $p<0,05$ ). Однако если у здоровых девочек моноциты при СДГ классифицировались как имеющие среднюю степень активности (степень «б»), то у девочек с кетоацидозом, больных АР, все реагирующие клетки классифицировались низшей степенью активности (степень «а»).

У девочек, больных СД, активность СДГ в моноцитах была в 1,1 раза больше, чем у здоровых девочек (СЦП реакции составлял  $32,22 [1,61; 30,60]$  у.е.), и в 2,3 раза больше, чем у девочек, больных АР.

Интересен качественный состав реагирующих клеток у данной группы детей. Все реагирующие моноциты крови девочек, больных СД, классифицировались как имеющие низшую степень активности (степень «а»).

Степень активности анаэробного гликолиза в моноцитах мальчиков, больных АР, определялась с помощью изучения ферментативной активности лактатдегидрогеназы (табл. 2).

Таблица 2

Активность ЛДГ в моноцитах детей с АР и СД

Показатели	Мальчики				Девочки			
	АР (n=30)		СД (n=32)		АР (n=45)		СД (n=41)	
	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД
СЦП	66,02 [3,30; 62,71]	52,07* [2,60; 9,46]	72,02 [3,60; 68,41]	84,61 [4,23; 80,37]	34,02 [1,70; 32,31]	22,31* [1,11; 21,19]	46,30 [2,31; 43,98]	52,67 [2,63; 50,03]
%	33,01	52,07*	36,01	84,61	17,01	22,31	23,15	52,67

реаг. клеток	[1,65; 31,35]	[2,60;49,4 6]	[1,80; 3420]	[4,23 ;80,37]	[0,85; 16,15]	[1,11; 21,19]	[1,15; 21,99]	[2,63; 50,03]
«а»	0	52,07* [2,60; 9,46]	0	84,61 [4,23; 80,37]	0	22,31 [1,11; 21,19]	0	52,67 [2,63; 50,03]
«б»	33,01 [1,65; 31,35]	0	36,01 [1,80; 3420]	0	17,01 [0,85; 16,15]	0	23,15 [1,15; 21,99]	0
«в»	0	0	0	0	0	0	0	0

\* $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми

Активность данного фермента у мальчиков исследуемой группы была в 1,7 раза снижена по сравнению с контрольной группой ( $СЦП_{AP} = 52,07 [2,60; 49,46]$  у.е.;  $СЦП_N = 66,02 [3,3; 62,71]$  у.е. ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми мальчиками). Если качественный состав реагирующих моноцитов у здоровых мальчиков определялся клетками степени «б» (средняя степень активности), то в моноцитах мальчиков, больных АР, СЦП формировался за счет клеток степени «а».

У мальчиков, больных СД, функция анаэробного гликолиза была повышенной как по сравнению со здоровыми детьми, так и по сравнению с больными АР ( $СЦП_{СД} = 93,06 [4,65; 88,40]$  ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми мальчиками и больными АР).

Качественно все реагирующие клетки имели высшую степень активности (степень «в»), клетки степеней «а» и «б» не встречались.

У здоровых девочек СЦП активности данного фермента в моноцитах составлял  $34,02 [1,70; 32,31]$  у.е. В моноцитах девочек с АР отмечалось снижение функциональной активности анаэробного гликолиза в 1,5 раза ( $СЦП_{AP} = 22,31 [1,11; 21,19]$  у.е.

Средний цитохимический показатель ЛДГ у здоровых девочек формировался исключительно клетками средней степени активности (степень «б»). У девочек, больных АР, все реагирующие клетки были низшей степени активности (степень «а»).

У девочек с кетоацидозом, больных СД, количество реагирующих моноцитов составляло  $19,01 [0,95; 18,05]$  %, что в 1,2 раза выше, чем у здоровых девочек ( $16,11 [0,80; 15,30]$  %), и в 3,3 раза выше, чем у девочек с АР ( $p < 0,05$  при сравнении со здоровыми девочками и девочками с АР). Соответственно, средний цитохимический показатель при СДГ в моноцитах девочек данной группы составлял также  $38,02 [1,90; 36,11]$  у.е., так как все реагирующие клетки были средней степени активности (степень «б»).

Активность пентозо-фосфатного шунта у мальчиков, больных АР, составляла  $49,81$

[2,49; 47,31] у.е., что в 1,2 раза ниже таковой у здоровых мальчиков (СЦП<sub>N</sub> = 62,02 [3,10; 58,91] у.е. Все реагирующие клетки имели степень активности «а». Клетки степеней «б» и «в» не встречались (табл. 3).

Таблица 3

Активность Г-6-ФДГ в моноцитах детей с АР и СД

Показатели	Мальчики				Девочки			
	АР (n=30)		СД (n=32)		АР (n=45)		СД (n=41)	
	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД	Здоровые дети	АР	Здоровые дети	СД
СЦП	62,02 [3,10; 58,91]	49,81* [2,49; 47,31]	86,14 [4,30;81, 7]	98,21 [4,91;93, 29]	42,02 [2,10; 39,91]	31,42* [1,57; 29,84]	42,22 [2,11;40, 10]	61,17* [3,05; 58,11]
% реак. клеток	31,01 [1,55; 29,45]	49,81 [2,49; 47,31]	43,01 [2,15; 40,85]	98,21 [4,91; 93,29]	21,01 [1,05; 19,95]	31,42 [1,57; 29,84]	21,11 [1,05; 20,05]	61,17 [3,05; 58,11]
«а»	0	49,81 [2,49; 47,31]	0	98,21 [4,91; 93,29]	0	31,42 [1,57; 29,84]	0	61,17 [3,05; 58,11]
«б»	31,01 [1,55; 29,45]	0	43,01 [2,15; 40,85]	0	21,01 [1,05; 19,95]	0	21,11 [1,05; 20,05]	0
«в»	0	0	0	0	0	0	0	0

\*p<0,05 при сравнении со здоровыми

Активность Г-6-ФДГ у мальчиков, больных СД, превышала таковую в контрольной группе в 1,2 раза и составляла 75,09 [3,75; 71,33] у.е. Все реагирующие клетки были высшей степени активности (степень «в»). У девочек, больных АР, СЦП Г-6-ФДГ составил 31,42 [1,57; 29,84] у.е., что в 1,2 раза меньше, чем в контрольной группе. Все реагирующие клетки имели низшую степень активности (степень «а»). У девочек, больных СД, отмечалась повышенная активность пентозо-фосфатного шунта. СЦП реакции превосходил таковой в 1,2 раза в контрольной группе и в 1,6 раза СЦП у девочек, больных АР (p<0,05 при сравнении со здоровыми девочками и больными АР). Качественный состав реагирующих клеток в моноцитах девочек, больных СД, при определении активности Г-6-ФДГ отличался от такового при других реакциях. Все реагирующие клетки в данном случае имели степень

активности «б», так же как в контрольной группе.

**Заключение.** Таким образом, в моноцитах детей с кетоацидозом, больных РА, активность метаболических ферментов была снижена по сравнению с нормой независимо от пола. Как у мальчиков, так и у девочек СЦП реакций формировался исключительно клетками низшей степени активности. В моноцитах детей с кетоацидозом, больных СД, были выявлены некоторые различия в зависимости от пола. Как у мальчиков, так и у девочек данной группы ферментативная активность моноцитов была повышена. Однако если у мальчиков СЦП активности был сформирован исключительно клетками низшей активности (степень «а»), то у девочек СЦП всех трех реакций формировался только клетками средней степени активности (степень «б»). Снижение ферментативной активности моноцитов у детей, больных АР, и повышение ее у детей, больных СД, возможно, объясняется острым характером одного заболевания и хроническим характером другого.

### Список литературы

1. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 640 с.
2. Маянская И.В., Шабунина Е.И., Ашкинази В.И. Лейкоцитмодулирующая активность сыворотки крови у детей с хроническими воспалительными заболеваниями органов пищеварения // Вопросы диагностики в педиатрии. 2009. Т. 1 № 1. С. 28-32.
3. Климова С.В. Клиническое значение активности митохондриальных ферментов лимфоцитов при воспалительных заболеваниях кишечника у детей: дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2010. 108 с.
4. Крылова Н.В. Клеточные и молекулярные механизмы противовирусной защиты при клещевом энцефалите: дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2014. 270 с.
5. Нарциссов Р.П. Цитохимия ферментов лейкоцитов в педиатрии: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Москва, 1970. 47 с.
6. Герасимов И.Г. Субпопуляции нейтрофилов периферической крови и возможности НСТ-теста в диагностике заболеваний новорожденных // Клиническая лабораторная диагностика. 2011. № 4. С. 42-44.
7. Алиева А.А., Галимзянов Х.М. Динамика цитохимической активности моноцитов крови у больных хроническим вирусным гепатитом с низкой степенью активности в зависимости от гендерных особенностей // Врач-аспирант. 2013. Т. 60. № 5.2. С. 293-298.
8. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю. Секреторные функции нейтрофилов // Аллергология и иммунология. 2015. Т. 16. № 2. С. 209-212.



9. Алиева А.А. Ферментативная активность нейтрофилов крови у больных хроническим вирусным гепатитом С в зависимости от гендерных особенностей // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. Т. 60. № 2. С. 33-36.
10. Дедов И.И., Петеркова В.А. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями. М.: Практика, 2014. 442 с.