

# Нарушения метаболической активности кишечной микрофлоры и местного иммунитета при ротавирусной инфекции

Г. П. МАРТЫНОВА, Н. В. КОГАН, И. А. СОЛОВЬЕВА

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск

Исследована метаболическая активность микрофлоры кишечника и содержание секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в копрофильtrate у больных ротавирусной инфекцией (РИ) в зависимости от характера течения заболевания. Установлено, что длительно сохраняющееся в течение болезни угнетение метаболических процессов микробиоценоза и недостаточность местного иммунитета определяют негладкий характер течения РИ.

**Ключевые слова:** ротавирусная инфекция, летучие жирные кислоты, биохимический анализ кала, местный иммунитет, микрофлора

## Disturbance of Metabolic Activity of Intestinal Microflora and Local Immunity of Rotavirus Infection

G. P. Martynova, N. V. Kogan, I. A. Solovyeva

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voyno-Yasenetskiy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk

The paper describes the research on metabolic activity of intestinal microflora and secretory immunoglobulin A (sIgA) content in coprofiltrate of rotavirus infection patients depending on disease course. It is established that a long-lasting clinical oppression of metabolic processes of microbiocenosis and local immunity deficiency define a rough course of rotavirus infection.

**Keywords:** rotavirus infection, volatile fatty acids, biochemical feces analysis, local immunity, microflora

**Контактная информация:** Мартынова Галина Петровна — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой детских инфекционных болезней с курсом ПО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ; 660022 г. Красноярск, ул. Партизана Железняка 1, тел. 8 (391) 224-33-05; e-mail: doc-martynova@yandex.ru (Martynova Galina Petrovna — Doctor of Medicine, Professor, the Head of Childhood Infectious Diseases Department with the course of post-qualifying education of Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voyno-Yasenetskiy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; 1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk)

УДК 616.34:615.37

В последнее десятилетие во всем мире и практически во всех регионах России происходит неуклонный рост заболеваемости ротавирусной инфекцией (РИ). При этом наиболее восприимчиво к инфекции детское население, особо уязвимой группой являются дети 6—12 мес., находящиеся на искусственном вскармливании. У детей раннего возраста инфекция часто протекает тяжело, с развитием эксикоза, в периоде реконвалесценции появляются симптомы нарушенного всасывания, формируется длительное вирусоносительство. Проведены исследования, доказывающие взаимосвязь хронической гастроэнтерологической патологии с хронической персистенцией ротавируса [1, 2].

Одним из наиболее важных факторов, оказывающих влияние на течение кишечных инфекций, является состояние микробиоценоза кишечника, вместе с тем, известна высокая частота развития дисбактериоза в острый период РИ у детей [1—3]. Дисбаланс со стороны нормальной микрофлоры способствует нарушению местного иммунитета, центральным звеном которого является секреторный иммуноглобулин А (sIgA) [4, 5]. Очевидно, что быстрота купирования клинических симптомов напрямую зависит от скорости элиминации возбудителя, которая определяется эффективностью механизмов иммунной защиты [5].

В свою очередь изменение содержания sIgA на разных стадиях болезни позволяет оценить состояние местного иммунитета при РИ, а также контролировать динамику лечения [6].

Одним из перспективных направлений изучения микробиологии кишечника в норме и при патологии является метод газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ), основанный на определении метаболической активности микрофлоры по уровню и спектру летучих жирных кислот (ЛЖК), которые представляют собой конечные продукты ферментации сахаролитической анаэробной микрофлоры (бифидобактерий, лактобактерий, бактериоидов, фузо-, зубактерий) [7]. Различные отклонения от нормы уровня и спектров ЛЖК могут служить биохимическими маркерами структурных и функциональных нарушений кишечной микрофлоры у больных детей [7, 8].

**Целью** настоящего исследования явилось изучение состояния метаболической активности кишечной микрофлоры и местного иммунитета у детей 0—1 года в зависимости от характера течения ротавирусной инфекции.

### Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находилось 60 детей в возрасте от 0 до 1 года со среднетяжелой формой РИ,

**Таблица 1.** Показатели метаболической активности микрофлоры кишечника в зависимости от характера течения РИ (Ме, С<sub>25</sub>—С<sub>75</sub>)

ЛЖК, мг/г	Здоровые	Характер течения			
		Гладкое n = 38		Негладкое n = 22	
		До лечения	В динамике	До лечения	В динамике
Общий уровень ЛЖК	4,710 [4,29 – 4,87]	1,720 [1,21 : 3,59]	6,782 [5,97 : 8,86]	2,205 [1,18 : 2,69]	3,847 [3,27 : 4,58] p <sub>1</sub> < 0,01 p <sub>2</sub> < 0,001
Анаэробный индекс	0,353 [0,31 – 0,37]	0,252 [0,15 : 0,45]	0,257 [0,17 : 0,64]	0,293 [0,19 : 0,46]	0,277 [0,11 : 0,50]
Индекс изо-кислот	0,297 [0,28 – 0,32]	0,67 [0,43 : 0,75]	0,236 [0,14 : 0,51]	0,656 [0,39 : 0,77]	0,632 [0,24 : 0,71] p <sub>1,2</sub> < 0,05
Уксусная (С2)	3,244 [3,09–3,46]	1,420 [0,97 : 2,59]	5,210 [4,40 : 6,08]	1,543 [0,82 : 2,07]	3,120 [2,67 : 3,59] p <sub>1,2</sub> < 0,05
Пропионовая (С3)	0,640 [0,59–0,66]	0,093 [0,05 : 0,38]	0,669 [0,42 : 1,12]	0,144 [0,06 : 0,28]	0,332 [0,11 : 0,67] p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,01
Масляная (С4)	0,408 [0,27–0,43]	0,070 [0,05 : 0,14]	0,526 [0,33 : 0,91]	0,072 [0,04 : 0,13]	0,167 [0,06 : 0,28] p <sub>1,2</sub> < 0,001
Изо-масляная (iС4)	0,048 [0,04–0,05]	0,022 [0,01 : 0,04]	0,069 [0,04 : 0,10]	0,020 [0,01 : 0,03]	0,035 [0,01 : 0,06] p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,01
Валериановая (С5)	0,047 [0,04–0,05]	0,033 [0,02 : 0,06]	0,070 [0,02 : 0,10]	0,030 [0,02 : 0,05]	0,029 [0,02 : 0,07] p <sub>2</sub> < 0,05
Изо-валериановая (iС5)	0,098 [0,06–0,11]	0,043 [0,03 : 0,06]	0,106 [0,06 : 0,16]	0,040 [0,03 : 0,07]	0,035 [0,02 : 0,10] p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,01
Капроновая Изокапроновая (С6, iС6)	0	0	0	0	0

p<sub>1</sub> — различия относительно показателей здоровых; p<sub>2</sub> — различия относительно показателей больных с гладким характером течения РИ

госпитализированных в специализированное отделение Абаканской инфекционной больницы (Республика Хакасия). Этиологический диагноз устанавливался на основании характерных для заболевания клинико-эпидемиологических данных и обязательного обнаружения антигена ротавируса в копрофильtrate методом ИФА. Помимо традиционного комплексного лабораторного обследования у всех пациентов при поступлении в стационар и в динамике заболевания (на 7-ые сутки) определяли количественное содержание sIgA в копрофильtrate методом твердофазного иммуноферментного анализа. Состояние микробиоценоза кишечника оценивали по уровню и спектрам летучих жирных кислот методом ГЖХ (на базе НИФ «Ультросан» ГУМНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского г. Москва). В качестве контроля обследовано 20 здоровых детей аналогичного возраста и пола.

### Результаты и их обсуждение

Клиническими проявлениями РИ у наблюдаемых больных являлась триада симптомов: рвота, водянистая диарея, температура, так называемый DFV-синдром (diarrhea, febrile, vomit). У всех 100% больных заболевание протекало остро, однако в 33,8% (22 чел.) случаев

имело место его негладкое течение, характеризующееся нарушением процессов переваривания и всасывания, и проявляющееся длительно сохраняющимся диарейным синдромом, стойкой анорексией, отсутствием прибавки в массе, изменениями в копрограмме, продолжающимся вирусомыделением.

Оценка биохимической активности представителей микробиоценоза в остром периоде заболевания у наблюдаемых больных свидетельствовала об угнетении метаболической активности нормальной микрофлоры, что выражалось снижением уровня как отдельных ЛЖК, так и их суммарного количества (табл. 1). Снижение уровней монокарбоновых кислот С<sub>2</sub>—С<sub>5</sub> позволяет предположить понижение интенсивности анаэробного метаболизма моносахаридов за счет структурных и функциональных нарушений микробиоценоза и моторно-эвакуаторных расстройств кишечника.

Вместе с тем, при обследовании в динамике заболевания (7 день) у больных с гладким течением РИ обнаружено статистически достоверное повышение уровня ЛЖК, что отражает процесс восстановления окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды, способствует повышению активности и численности

**Таблица 2.** Содержание sIgA в кале в зависимости от характера течения РИ (Ме, С25—С75)

Показатели	Здоровые	Характер течения			
		Гладкое n = 38		Негладкое n = 22	
		До лечения	В динамике	До лечения	В динамике
sIgA, мг/л	261,0 [243—375]	89,12 [60,9 : 147]	303,45 [283 : 374]	95,65 [63,2 : 128]	209,22 [189 : 241] p <sub>1,2</sub> < 0,001

p<sub>1</sub> — различия относительно показателей здоровых; p<sub>2</sub> — различия относительно показателей больных с гладким характером течения РИ

облигатных микроорганизмов, приводит к нормализации баланса аэробных и анаэробных популяций микробиоценоза (табл. 1). В то же время у больных с негладким течением РИ при обследовании на 7 день болезни показатели ЛЖК сохранялись на низком уровне, по сравнению с детьми, имеющими клинично-лабораторное выздоровление в эти сроки, что в свою очередь указывает на сохраняющийся структурный и функциональный дисбаланс микрофлоры кишечника. Как известно, уксусная кислота (С2) участвует, главным образом, в липогенезе, регуляции местного иммунитета и уровня рН, моторной и секреторной активности кишечника. У больных с негладким характером течения РИ концентрация С2 оставалась сниженной, не достигая ни у одного ребенка нижней границы нормы. Это свидетельствует об угнетении продуцентов данного метаболита (большинство анаэробных популяций, *E. coli*) нарушении липидного обмена и повышении утилизации ее в качестве источника энергии. Масляная кислота (С4) является энергосубстратом для эпителиоцитов толстой кишки, и ее показатели характеризуют состояние слизистой. Помимо этого, бутират является важным фактором регуляции пролиферации и дифференцировки эпителия кишечника. Уровень С4 у этой группы больных также сохранялся на достоверно более низких цифрах, как относительно контрольного диапазона, так и больных с гладким течением РИ (p < 0,001). Пропионовая кислота (С3) регулирует микроциркуляцию в слизистой оболочке и поддерживает в ней трофические процессы, участвует в глюконеогенезе и синтезе биогенных аминов, блокируя адгезию патогенов. Показатели концентрации С3, продуцентами которой являются *Veilonella*, *propionobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium* у большинства детей регистрировались на более низком уровне по сравнению со здоровыми (p < 0,05) и больными с гладким характером течения РИ (p < 0,01), что говорит об угнетении ее основных продуцентов и дефиците соответствующих субстратов (сахаров, крахмала, пектинов).

Кроме того, необходимо отметить, что у больных с длительно сохраняющимся диарейным синдромом отмечались выраженные изменения со стороны изо-кислот (изо-масляной iC4, изо-валериановой iC5). Изо-формы ЛЖК, как конечные продукты микробной ферментации, характеризуют протеолитическую активность микро-

флоры. Наблюдаемое отклонение от физиологической нормы данных метаболитов свидетельствует о сохраняющейся ферментативной недостаточности верхних отделов ЖКТ и низкой протеолитической активности анаэробов. В результате, общий уровень ЛЖК к 7 дню болезни был достоверно ниже как относительно показателей контрольной группы (p < 0,01), так и больных с гладким течением болезни (p < 0,001) (табл. 1).

Адекватно изменениям метаболической активности микрофлоры у всех больных РИ уже в начальном периоде заболевания выявлялось значительное снижение содержания sIgA в копрофильtrate (табл. 2). Однако, несмотря на исходно низкие показатели sIgA, у больных с гладким течением РИ на фоне лечения происходила активизация процессов иммунной защиты, сопровождающаяся повышением уровня sIgA в кале до уровня здоровых детей, что в свою очередь обеспечивало благоприятный исход заболевания и полную санацию от возбудителя. У больных с негладким характером течения при обследовании в динамике сохранялся низкий уровень sIgA в фильтрате фекалий, статистически достоверный как относительно контрольного диапазона, так и параметров концентрации sIgA у больных с гладким течением РИ (p < 0,001). При этом затягивалась элиминация возбудителя.

Проведение корреляционного анализа позволило выявить наличие тесных коррелятивных связей между показателями ЛЖК и sIgA. В острый период РИ у больных обнаружены взаимосвязи концентрации sIgA в копрофильtrate с общим уровнем ЛЖК (r = 0,95 p < 0,001), показателями концентрации уксусной С2 (r = 0,94 p < 0,001), пропионовой С3 (r = 0,51 p < 0,001) и масляной С4 (r = 0,33 p < 0,01) кислот. При сравнительном анализе показателей до и после лечения выявлена положительная взаимосвязь sIgA в кале в динамике заболевания с исходным уровнем С2 (r = 0,29 p < 0,05). Данная взаимосвязь объясняется тем, что основными продуцентами уксусной кислоты являются анаэробы индигенной микрофлоры — бифидо- и лактобактерии, а из аэробов — нормальная кишечная палочка. Снижение концентрации С2 свидетельствует о недостатке, либо изменении свойств именно этой группы микроорганизмов. Принимая во внимание стимулирующее действие данных микроорганизмов на продукцию sIgA [4, 5, 9], снижение в первую очередь

именно С2 влечет за собой недостаточность местного звена иммунитета.

Таким образом, полученные нами данные позволили установить, что длительно сохраняющееся в течение болезни угнетение метаболических процессов, свидетельствующее о микробиологическом дисбалансе с дефицитом анаэробов, и снижением их ферментативной активности, а также недостаточность выработки sIgA определяют негладкий характер течения РИ у детей. Изменения метаболической активности кишечной микрофлоры и состояние местного иммунитета взаимосвязаны и взаимообусловлены, имеют достоверные отличия при различных вариантах РИ, что может найти применение в прогнозировании характера течения заболевания и дифференцированном подходе к назначению этиопатогенетической терапии.

### Литература:

1. Клиника, эпидемиология и профилактика ротавирусной инфекции: Метод. рекомендации / Под ред. академика РАМН профессора Ю.В. Лобзина. — СПб.: НИИДИ, 2013. — 48 с.
2. Diarrhea with Rotavirus in Children / C. Singer, P. Stancu, S. Cosoveanu et al. // Current Health Sciences J. — 2010. — № 36. — P. 5698—5700.
3. Оценка состояния кишечной микрофлоры при острых кишечных инфекциях у детей младшего возраста / Л.Н. Мазанкова, Н.О. Ильина, О.А. Кондракова, А.М. Затевалов // Детские инфекции. — 2005. — Т. 4, № 3. — С. 11—15.
4. Актуальные вопросы коррекции кишечной микрофлоры у детей: метод. пособие / Корниенко Е.А. — М., 2006. — 48 с.
5. Мазанкова Л.Н. Микробиоценоз кишечника и иммунитет / Л.Н. Мазанкова, А.А. Новокшенов, И.Д. Майкова // Детские инфекции. — 2007. — Т. 6, № 1. — С. 9—12.
6. Горелов А.В. Ротавирусная инфекция у детей / А.В. Горелов, Д.В. Усенко // Вопросы современной педиатрии. — 2008. — Т. 7, № 6. — С. 72—78.
7. Определение метаболической активности анаэробной микрофлоры по содержанию летучих жирных кислот в кале и слюне для характеристики дисбиотических состояний кишечника и ротовой полости у детей (метод газо-жидкостной хроматографии): пособие для врачей / О.А. Кондракова, А.М. Затевалов, Л.Н. Мазанкова, Л.Н. Мазанкова. — М., 2005. — 55 с.
8. Диетическая коррекция метаболических нарушений микрофлоры кишечника при вирусных диареях у детей раннего возраста / Л.Н. Мазанкова, Л.В. Бегиашвили, Н.О. Ильина, О.А. Кондракова и др. // Детские инфекции. — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 26—32.
9. Мартынова Г.П. Изменение метаболической активности микрофлоры кишечника при ротавирусной инфекции у детей / Г.П. Мартынова, Н.В. Коган // Сиб. Медицинское обозрение. — 2008. — № 5. — С. 84—88.
10. Klinika, epidemiologiya i profilaktika rotavirusnoy infektsii: Metodicheskiye rekomendatsii / Pod. red. akademika RAMN professora Y. Lobzina. — SPb.: NIIDI, 2013. — 48 s.
11. Diarrhea with Rotavirus in Children / C. Singer, P. Stancu, S. Cosoveanu et al. // Current Health Sciences J. — 2010. — № 36. — P. 5698—5700.
12. Otsenka sostoyaniya kischechnoy mikroflory pri ostrykh kischechnykh infektsiyakh u detey mladshogo vozrasta / L.N. Mazankova, N.O. Ilyina, O.A. Kondrakova, A.M. Zatevalov // Detskiye infektsii. — 2005. — Т. 4, № 3. — С. 11—15.
13. Aktualnyye voprosy korrektsii kischechnoy mikroflory u detei: metod. posobiye / Kornienko E.A. — М., 2006. — 48 s.
14. Mazankova L.N. Mikrobiotsenoz kischechnika i иммунитет / L.N. Mazankova, A.A. Novokshonov, I.D. Maykova // Detskiye infektsii. — 2007. — Т. 6, № 1. — С. 9—12.
15. Gorelov A.V. Rotavirusnaya infektsiya u detei / A.V. Gorelov, D.V. Usenko // Voprosy sovremennoy pediatrii. — 2008. — Т. 7, № 6. — С. 72—78.
16. Opredeleniye metabolicheskoy aktivnosti anaerobnoy mikroflory po sodержaniyu letuchikh zhirnykh kislot v kale i slune dlya kharakteristiki disbioticheskikh sostoyaniy kischechnika i rotovoy polosty u detei (metod gazo-zhidkostnoy khromatografii): posobiye dlya vrachei / O.A. Kondrakova, A.M. Zatevalov, L.N. Mazankova. — М., 2005. — 55 s.
17. Diyeticheskaya korrektsiya metabolicheskikh narusheniy mikroflory kischechnika pri virusnykh diareyakh u detei rannego vozrasta / L.N. Mazankova, L.V. Begiashvili, N.O. Ilyina, O.A. Kondrakova i dr. // Detskiye infektsii. — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 26—32.
18. Martynova G.P. Izmeneniye metabolicheskoy aktivnosti mikroflory kischechnika pri rotavirusnoy infektsii u detei / G.P. Martynova, N.V. Kogan // Sib. Meditsinskoye obozreniye. — 2008. — № 5. — С. 84—88.

## Значение количественного определения core-антигена в сыворотке крови у детей с гепатитом С

Е. А. ЛЕЙБМАН<sup>1,2</sup>, Л. И. НИКОЛАЕВА<sup>2</sup>, Г. В. САПРОНОВ<sup>4</sup>, И. В. ШЕСТАКОВА<sup>3</sup>, Е. И. САМОХВАЛОВ<sup>2</sup>, О. Б. КОВАЛЕВ<sup>1</sup>, А. Г. ПИСАРЕВ<sup>1</sup>, Л. И. КОНОВАЛОВА<sup>3</sup>, А. Е. ГРИШЕЧКИН<sup>2</sup>, В. Ф. УЧАЙКИН<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова МЗ России, Москва<sup>1</sup>

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского» МЗ России, Москва<sup>2</sup>

ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г. Н. Сперанского, Москва<sup>3</sup>

ГБОУ ДПО РМАПО МЗ России, Москва<sup>4</sup>

Впервые исследовано клинко-патогенетическое значение определения HCV core-антигена (HCV core-Ag) в сыворотке крови больных гепатитом С детей. Установлена прямая корреляция между концентрацией HCV core-Ag и вирусной нагрузкой (ВН) ( $r = 0,91$ ). У детей с высоким содержанием core-Ag (выше 2500 фмоль/л) получены косвенные данные в пользу иммуносупрессивного действия HCV core-Ag, а также более частое возникновение фиброза печени ( $p < 0,05$ ). В этой группе обнаружено преобладание HCV субтипа 3a ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, дети, HCV core-Ag, вирусная нагрузка, генотип вируса