

Диагностическое значение короткоцепочечных жирных кислот при острых кишечных инфекциях ротавирусной этиологии у детей первого года жизни

Б.А.Бабаєва

Азербайджанский медицинский университет
(ректор — академик НАНА и РАМН, профессор А.Т.Амирасланов)
Баку, Азербайджан

Острые кишечные инфекции до настоящего времени занимают ведущее место в инфекционной патологии детского возраста, уступая по заболеваемости только острым респираторным инфекциям. По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется до 1-1,2 млрд «диарейных заболеваний». За последние десятилетия существенно изменилась этиологическая структура острых кишечных инфекций во всем мире. Так, если в первой половине XX века ведущая роль принадлежала бактериальным возбудителям, то в последние годы отмечается отчетливое доминирование вирусных инфекций. Общеизвестно, что острые диареи также являются мощным фактором, способствующим развитию количественных и качественных изменений микробиоценоза кишечника, особенно у детей. В остром периоде ротавирусного гастроэнтерита у 67,7-96% больных отмечается нарушение микробиоценоза кишечника в той или иной степени выраженности, что утяжеляет течение гастроэнтерита, способствует формированию упорных диарей, снижает эффективность проводимой терапии. Поэтому оценка состояний микробиологических нарушений поможет в разработке диагностических критериев оценки тяжести и характера течения острых кишечных инфекций вирусной этиологии.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, дети, ротавирус, короткоцепочечные жирные кислоты, кишечная микрофлора.

Введение

В настоящее время наиболее частым методом, применяемым для оценки состава кишечной микробиоты у детей, является анализ кала на дисбактериоз, разработанный Р.В.Эпштейн-Литвак и Ф.Л.Вильшанской (1970). Этот метод до сих пор существует практически в неизменном виде и широко применяется в микробиологических лабораториях. Вышеизложенная методика имеет ряд преимуществ (позволяет делать посевы одновременно на 6 средах и исследовать не только кишечную палочку, но и другие аэробы из группы условно патогенных бактерий), однако есть и ряд значительных недостатков: длительность получения результатов, использование дорогостоящих питательных сред, определение в анализах внутрипросветной флоры и наряду с ней транзитной (пассажной) флоры, что не дает полного представления о населяющей гликокаликс автохтонной микрофлоре, неоднородность выделения микроорганизмов из разных отделов испражнений, низкая воспроизводимость результатов. Довольно часто забывают о низкой чувствительности данного

метода и возможности получения ложно-отрицательных результатов [7, 10, 12].

Хорошо известно, что культуральным методом можно идентифицировать только около 20% от всех микроорганизмов, составляющих кишечную микрофлору толстого кишечника у детей. Значительную часть микрофлоры кишечника у детей составляют различные анаэробные бактерии, которые невозможно культивировать на селективных или неселективных средах. [8, 10]. Поэтому в последние годы приобрели большую актуальность поиски экспрессных методов диагностики, позволяющих в короткие сроки достоверно оценить состояние кишечной микрофлоры, путем исследования биохимической активности соответствующих групп микроорганизмов.

Одним из таких перспективных направлений изучения микробиологии кишечника в норме и при патологии является метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ), основанный на определении метаболической активности микрофлоры по спектрам и уровням летучих жирных кислот.

Летучие жирные кислоты (ЛЖК) — монокарбоновые кислоты с длиной цепи до 8 атомов углерода, поэтому в англоязычной литературе их еще называют «short chain fatty acids» (SCFA) — короткоцепочечными жирными кислотами. К ним относятся уксусная, пропионовая, изомасляная, масляная, изовалериановая, валериановая, изокапроновая, капроновая. Вырабатываются летучие жирные кислоты, главным образом, анаэробными бактериями, которые доминируют в составе кишечной микрофлоры. Неразветвленные ЛЖК — уксусная, пропионовая и масляная — образуются при анаэробном брожении углеводов, тогда как метаболизация белков ведет к образованию разветвленных кислот — изомасляной (из валина) и изовалериановой (из лейцина). [2, 5].

К настоящему времени накоплено много фактов, свидетельствующих об участии и регулирующей роли ЛЖК в большинстве физиологических эффектов, оказываемых индигенной микрофлорой в организме. ЛЖК участвуют в поддержании водно-электролитного баланса в просвете кишки. Вместе с ЛЖК всасываются ионы натрия, калия, хлора и воды. От всасывания ЛЖК зависит содержание карбонатов в просвете кишки и pH кишечного содержимого. [1, 3].

Таким образом, метод ГЖХ для оценки состояния микробиоценоза на сегодняшний день представляется необходимым дополнением к копрологическому и микробиологическому методам для всесторонней диагностики патологических состояний кишечника. Определение метаболической активности кишечной микрофлоры по уровням и спектрам ЛЖК в острый период кишечных инфекций у детей, в том числе вирусных диарей, имеет важное диагностическое значение для определения степени микробиологических нарушений в кишечнике, контроля эффективности проводимой терапии. Данные показатели могут служить критерием прогноза характера течения заболевания, а также позволяют дифференцировано подходить к терапии острых кишечных инфекций (ОКИ) вирусной этиологии.

Целью исследования было изучить клинико-диагностическое и прогностическое значение количественно-качественных изменений показателей летучих жирных кислот при вирусных диареях у детей первого года жизни.

Материалы и методы исследования

Нами было обследовано 60 детей с острыми кишечными инфекциями в возрасте 0-1 год, госпитализированных в 1-2-й день заболевания

в инфекционное отделение НИИ педиатрии им К.Фараджевой. Контрольную группу составили 30 здоровых детей соответствующего возраста.

На каждого наблюдаемого ребенка была заведена специально разработанная карта обследования, в которой были отражены основные анамнестические данные, история настоящего заболевания, динамика развития клинических симптомов, результаты лабораторных исследований, включая общепринятые методы обследования, которые проводились всем больным при поступлении в стационар (общий анализ крови, мочи, расширенная копрограмма, исследование кала на яйца глист и простейших).

Для выяснения этиологии ОКИ всем больным проводилось бактериологическое исследование фекалий на наличие патогенных и условно-патогенных возбудителей ОКИ. Идентификация выделенных культур и изучение их свойств производились по общепринятой методике.

Определение антигенов ротавирусов проводили в кале методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). С этой целью был использован коммерческий набор реагентов фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Результаты анализировались при помощи иммуноферментного анализатора STATFAX. Иммунологические исследования проводили на кафедре микробиологии и иммунобиологии АМУ.

Для определения ЛЖК в кале была применена методика, включающая в себя этап подготовки копродистиллята и ГЖХ-анализ.

Результаты исследования и их обсуждение

Среди обследованных 60 детей у 36 (60%) больных ротавирусная инфекция протекала в виде моноварианта, а у 24 (40%) больных ассоциировалась с представителями условно-патогенной микрофлоры (*E.coli*, *Staphylococcus*, *Proteus* и др.).

Полученная нами оценка метаболической активности представителей микрофлоры кишечника в острый период ротавирусной инфекции у наблюдаемых нами больных свидетельствовала об ее угнетении, что выражалось снижением уровня как отдельных летучих жирных кислот, так и их суммарного количества.

Концентрация уксусной кислоты (C_2) при ротавирусной инфекции была снижена, не достигая ни у одного ребенка нижней границы нормы. Однако более низкие показатели уксусной кислоты отмечались при ротавирусной инфекции, протекающей ассоциировано с представителями УПМ (2,210 мг/мл [1,935:3,217]), что объясняется более выраженным угнетени-

Таблиця 1

Содержание жирных кислот при кишечных инфекциях

Летучие жирные кислоты, мг/мл	Моноротавирусная инфекция	Микстротавирусная инфекция	Контрольная группа
Уксусная (C ₂)	2,662 [1,935:3,217]	2,210 [1,935:3,217]	4,078 [3,689:4,723]
Пропионовая (C ₃)	0,619 [0,358:0,798]	0,436 [0,267:0,733]	0,935 [0,8:1,092]
Изомасляная (iC ₄)	0,068 [0,056:0,080]	0,381 [0,124:0,737]	0,075 [0,043:0,129]
Масляная (C ₄)	0,56 [0,339:0,733]	0,38 [0,124:0,737]	1,480 [0,086:0,225]
Изовалериановая (iC ₅)	0,127 [0,101:0,142]	0,168 [0,123:0,222]	0,148 [0,086:0,225]
Валериановая (C ₅)	0,081 [0,067:0,119]	0,066 [0,056:0,090]	0,118 [0,073:0,172]
Общий уровень метаболитов	4,119 [3,24:4,636]	3,351 [2,475:4,636]	6,834 [5,894:7,754]
Анаэробный индекс	0,554 [0,348:0,718]	0,525 [0,396:0,839]	0,679 [0,475:0,835]
Индекс изокислот	0,307 [0,218:0,449]	0,684 [0,316:1,867]	0,151 [0,074:0,254]

ем продуцентов этого метаболита (анаэробных популяций), за счет инвазии и развития воспалительного процесса в слизистой толстой кишки, а также ослаблением местного иммунитета.

Показатели концентраций пропионовой кислоты (C₃), продуцентами которой являются *Veilonella*, *Propionobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, у большинства детей обеих групп были снижены (0,619 мг/мл [0,358:0,798] — в группе ротавирусной и 0,436 мг/мл [0,267:0,733] — в группе ротавирусно-бактериальных ОКИ, при норме для детей этого возраста — от 0,8 до 1,092 мг/мл). Данные изменения свидетельствуют об угнетении основных продуцентов пропионовой кислоты и нарушении местной микроциркуляции.

Уровень масляной кислоты в острый период ротавирусной инфекции был снижен у больных детей обеих групп, однако более низкие показатели масляной кислоты отмечались у детей с ассоциированной инфекцией — 0,381 мг/мл [0,124:0,737] против 0,563 мг/мл [0,339:0,733] у детей с моноротавирусной инфекцией.

Данный метаболит, как известно, является энергосубстратом для эпителиоцитов толстой кишки, и снижение этого показателя характеризует воспалительные изменения слизистой при бактериальной этиологии.

Изоформы ЛЖК, как конечные продукты микробной ферментации белков и аминокислот, характеризуют протеолитическую активность микрофлоры. В острый период моноротавирусной инфекции концентрации изокислот

(изомасляной и изовалериановой) были снижены (0,068 [0,056:0,080] и 0,127 [0,101:0,142] соответственно), тогда как при ротавирусно-бактериальных ОКИ показатели изоформ ЛЖК значительно повышались (0,090 [0,060:0,105] и 0,168 [0,133:0,212] соответственно) относительно контрольной группы (0,075 [0,043:0,109] и 0,148 [0,113:0,185]). Это может служить важным дифференциально-диагностическим критерием.

Индекс изокислот — соотношение суммы изомасляной, изовалериановой кислот и суммы соответствующих нормальных ЛЖК (масляная, валериановая), является показателем соотношения протеолитической и сахаролитической активности анаэробной микрофлоры. Индекс изокислот при ассоциированной инфекции повышался относительно диапазона контрольных групп (0,684 [0,316:1,867] и 0,151 [0,074:0,254] соответственно), что объясняется не только повышением уровня изоформ кислот, являющихся продуцентами протеолитической микрофлоры, но и уменьшением количества продуцентов анаэробной сахаролитической микрофлоры.

Для оценки метаболической активности кишечной микрофлоры помимо абсолютных концентраций отдельных ЛЖК используют такой показатель, как их суммарная концентрация — общий уровень метаболитов, отображающий метаболическую активность как просветных, так и пристеночных популяций. При этом низкий общий уровень метаболитов свидетельствует о понижении метаболической активности нор-

мальной микрофлоры, возможном снижении моторики толстой кишки, а также о дефиците пищевых субстратов. Повышение общего уровня метаболитов может отмечаться в случае гиперколонизации толстой кишки отдельными представителями анаэробной микрофлоры, усилении ее метаболической активности, при ферментативной недостаточности, нарушении всасывания.

Исходя из концентраций отдельных кислот, определялась их суммарная концентрация — общий уровень метаболитов, который у всех детей был ниже возрастной нормы. Однако в группе микстротавирусной ОКИ он был ниже, чем в группе вирусных (3,351 мг/мл [2,475:4,636] и 4,119 мг/мл [3,24:4,636] соответственно).

Отношение суммы ЛЖК (кроме уксусной) к уровню уксусной кислоты отражает анаэробный индекс. Уровень анаэробного индекса был снижен в группе вирусных диарей в меньшей степени (0,554 [0,348:0,718]), чем при бактериальных ОКИ (0,525 [0,396:0,839]). При вирусных ОКИ это происходит, в большей степени, за счет угнетения представителей строгой анаэробной микрофлоры, тогда как при бактери-

альных ОКИ — за счет повышенной продукции уксусной кислоты, являющейся результатом жизнедеятельности аэробной микрофлоры (*E.coli*, *Staphylococcus*, *Proteus* и др.).

Выводы

Таким образом, как показали наши исследования, при острых кишечных инфекциях ротавирусной этиологии уровни летучих жирных кислот снижаются незначительно от нормы, что свидетельствует о стабильности функциональной активности микрофлоры кишечника. При вирусно-бактериальных острых кишечных инфекциях развиваются более глубокие микробиологические нарушения, характеризующиеся выраженным угнетением метаболической активности микрофлоры кишечника, отражением чего являются низкие уровни летучих жирных кислот. Применение метода газжидкостной хроматографии позволяет в режиме реального времени оценить метаболическую активность кишечной микрофлоры в острый период острых кишечных инфекций различной этиологии, что имеет важное значение для проведения дифференцированной лечебной тактики.

Литература

1. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Прихно Н.И. и соавт. Летучие жирные кислоты и их диагностическое и прогностическое значение в гастроэнтерологической клинике // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. — 2000. — №5. — С. 63-70.
2. Белобородова Н.В., Белобородов С.М. Метаболиты анаэробных бактерий (летучие жирные кислоты) и реактивность макроорганизма // Антибиотики и химиотерапия. — 2000. — №2. — С. 28-35.
3. Горелов А.В., Ардатская М.Д., Усенко Д.В. Динамика спектра короткоцепочечных жирных кислот в кале у детей с вирусными диареями на фоне применения смеси с пробиотиками // Педиатрия. — 2008. — Т.87, №6. — С. 82-86.
4. Горелов А.В., Усенко Д.В. Ротавирусная инфекция у детей // Вопросы современной педиатрии. — 2008. — Т.7, №6. — С. 78-84.
5. Ильина Н.О., Мазанкова Л.Н., Кондракова О.А. и соавт. Метаболические критерии дисбактериоза кишечника при острых кишечных инфекциях у детей // Гастроэнтерология. Прил. Consilium Medicum. — 2006. — №1. — С. 32-38.
6. Коган Н.В. Ротавирусная инфекция у детей: значение изменений маркеров метаболической активности анаэробной микрофлоры кишечника: Автореф. дисс. ... к.мед.н. — Красноярск, 2009. — 26 с.
7. Мазанкова Л.Н., Бегиашвили Л.В., Шапошникова Л.И. Характеристика метаболической активности кишечной микрофлоры и методы пробиотической коррекции при вирусных диареях у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2009. — №4. — С. 44-48.
8. Маянский А.Н. Дисбактериоз: иллюзии и реальность // Педиатрия. — 2000. — №4. — С. 80-87.
9. Михайлова Е.В., Шульдяков А.А., Кошкина А.П. и др. Ротавирусная инфекция у детей. — Саратов, 2006. — 80 с.
10. Осипов Г. Невидимый орган — микрофлора человека. — Источник: <http://www.rusmedserv.com/microbdia/invisibleorgan.htm#b6>; <http://www.rusmedserv.com/microbdia/invisibleorgan.htm>
11. Tangerman A., Nagengast.F. A gas chromatographic analysis of fecal short-chain fatty acids, using the direct injection method // Anal-Biochem. — 1996. — Vol. 236 (1). — P. 1-8.
12. Sharma R., Young C., Mshvildadze M. et al. Intestinal microbiota: does it play a role in diseases of the neonate? // Neo-Reviews. — 2009. — Vol. 10. — №4. — P. 166-179.

Б.А.Бабаева. Діагностичне значення коротколанцюгових жирних кислот при гострих кишкових інфекціях ротавірусної етіології у дітей першого року життя. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: гострі кишкові інфекції, діти, ротавірус, коротколанцюгові жирні кислоти, кишкова мікрофлора.

Гострі кишкові інфекції до теперішнього часу займають головне місце в інфекційній патології дитячого віку, поступаючи за захворюваністю тільки гострим респіраторним інфекціям. За даними ВООЗ, щорічно у світі реєструється до 1-1,2 млрд «діарейних захворювань». За останні десятиліття суттєво змінилася етіологічна структура гострих кишкових інфекцій у всьому світі. Так, якщо у першій половині ХХ століття ведуча роль належала бактеріальним збудникам, то в останні роки відмічається чітке домінування вірусних інфекцій. Загальновідомо, що гостра діарея також є потужним фактором, що спричиняє розвиток кількісних та якісних змін мікробіоценозу кишечника, особливо у дітей. У гострому періоді ротавірусного гастроентериту у 67,7-96% хворих відмічається порушення мікробіоценозу кишечника того чи іншого ступеня вираженості, що обтяжує перебіг гастроентериту, спричинює формування стійких діарей, знижує ефективність проводимої терапії. Тому оцінка стану мікроекологічних порушень допоможе в розробці діагностичних критеріїв оцінки тяжкості та характеру перебігу гострих кишкових інфекцій вірусної етіології.

В.А. Babayeva. Diagnostic value of short-chain fatty acids at virus diarrheas at children of the first year of life. Baku, Azerbaijan.

Key words: acute enteric infection, children, intestinal microflora, rotavirus, short-chain fatty acids.

Acute enteric rotavirus infections levels of short-chain fatty acids decrease slightly from norm that testifies to stability of functional activity of microflora of intestines. At viral-bacterial acute enteric infections deeper microbiological infringements characterized by expressed oppression of metabolic activity of microflora of intestines develop, reflection of that are low levels of short-chain fatty acids. Application of method of gas-liquid chromatography allows estimating in a mode of real time metabolic activity of intestinal microflora during the sharp period of acute enteric infections of a various etiology that has great value for carrying out of differentiated medical tactics.

Надійшла до редакції 09.12.2011 р.

© Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можасєва, 2012

УДК 591.444: 504.054«4641»

Екологически неблагоприятное влияние эпихлоргидрина на структурную организацию гипофиза крыс-самцов на разных этапах постнатального онтогенеза

К.А. Фомина

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»,
кафедра анатомии человека (заведующий — профессор В.И.Лузин)
Луганск, Украина

Приведены результаты анатомо-экспериментального исследования двухмесячного ингаляционного воздействия эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м³ (10 ПДК) на структурную организацию гипофиза белых крыс-самцов неполовозрелого, половозрелого и старческого возрастов. Установлено статистически значимое уменьшение абсолютной массы, относительной массы гипофиза и гипофизарно-мозгового индекса во всех возрастных сериях. Зафиксировано значительное уменьшение длины, толщины и объема гипофиза, увеличение ширины и плотности данного органа, максимально выраженные у крыс репродуктивного возраста.

Ключевые слова: эпихлоргидрин, гипофиз, крысы, возраст.

Введение

Одной из серьезных экологических проблем является загрязнение окружающей среды промышленными отходами, содержащими токси-

ческие летучие вещества. Современное производство, применение пластмасс, синтетических смол приводит к загрязнению воздуха рабочей зоны и кожных покровов работающих, а также