

Биохимические маркёры степени тяжести и возникновения негладкого течения псевдотуберкулёза у детей

О.Л. Носарева*, А.П. Помогаева, Е.А. Степовая, Е.В. Шахристова, Р.М. Карпов

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Реферат

Актуальность. В настоящее время псевдотуберкулёз характеризуется высокой заболеваемостью у детей и занимает второе место по частоте среди острых кишечных инфекций, уступая шигеллёзам. Актуален поиск взаимосвязей между ранними изменениями метаболизма клеток, нарушениями функций отдельных органов и систем организма при патогенном воздействии инфекционного агента и степенью тяжести, возникновением негладкого течения псевдотуберкулёза у детей.

Цель. Поиск биохимических маркёров для прогнозирования степени тяжести и возникновения негладкого варианта течения псевдотуберкулёза у детей.

Материал и методы исследования. Выполнено проспективное исследование 125 пациентов с псевдотуберкулёзом в периоды разгара заболевания, ранней реконвалесценции, выздоровления: 17 — с лёгкой степенью тяжести и гладким течением заболевания; 64 — со средней степенью тяжести и гладким течением болезни; 28 — со средней степенью тяжести и негладким течением; 16 — с высокой степенью тяжести и негладким течением заболевания. Группа сравнения — 45 детей из группы здоровья ПА. Распределение обследованных детей по полу было равным, возраст составил от 9 до 13 лет. Спектрофотометрическим методом определено следующее: в плазме крови — содержание малонового диальдегида; в эритроцитах — концентрация восстановленного глутатиона, активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы и каталазы. Выполнен расчёт величин соотношений: восстановленный глутатион/малоновый диальдегид, восстановленный глутатион/глутатионредуктаза, восстановленный глутатион/глутатионпероксидаза, восстановленный глутатион/глутатион-S-трансфераза, глутатионпероксидаза/каталаза. Нормальность распределения полученных данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, проверку статистических гипотез о различии между исследуемыми группами — непараметрическим критерием Манна–Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. В острый период заболевания на основании проведённого анализа установили статистически значимое снижение величин соотношений восстановленный глутатион/малоновый диальдегид, восстановленный глутатион/глутатионредуктаза, восстановленный глутатион/глутатионпероксидаза в 3,0, 3,5 и 3,1 раза соответственно ($p < 0,05$) при лёгкой степени тяжести и гладком течении; в 5,3, 5,1 и 3,8 раза ($p < 0,05$) при средней степени тяжести и гладком течении; в 5,8, 4,0 и 3,0 раза ($p < 0,05$) при средней степени тяжести и негладком течении; в 8,1 и 6,1 раза ($p < 0,05$) при тяжёлой степени тяжести и негладком течении относительно контрольных величин. Однако в период ранней реконвалесценции негладкого течения данные показатели значимо снижались в 2,2, 4,4 и 1,8 раза ($p < 0,05$) при средней степени тяжести и в 3,4, 6,8 и 2,2 раза ($p < 0,05$) при тяжёлой степени тяжести относительно контрольных величин.

Вывод. Прогностически значимыми критериями увеличения степени тяжести и возникновения негладкого течения псевдотуберкулёза у детей в острый период заболевания является снижение величин соотношений восстановленный глутатион/малоновый диальдегид менее 17,0, восстановленный глутатион/глутатионредуктаза ниже 38,0 и восстановленный глутатион/глутатионпероксидаза менее 12,0.

Ключевые слова: дети, псевдотуберкулёз, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, система глутатиона.

Для цитирования: Носарева О.Л., Помогаева А.П., Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Карпов Р.М. Биохимические маркёры степени тяжести и возникновения негладкого течения псевдотуберкулёза у детей. *Казанский мед. ж.* 2022;103(2):211–220. DOI: 10.17816/KMJ2022-211.

*Для переписки: olnosareva@yandex.ru

Поступила 11.08.2021; принята в печать 11.10.2021;

опубликована: 12.04.2022.

© Эко-Вектор, 2022. Все права защищены.

*For correspondence: olnosareva@yandex.ru

Submitted 11.08.2021; accepted 11.10.2021;

published: 12.04.2022.

© Eco-Vector, 2022. All rights reserved.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ2022-211

Biochemical markers of the severity and occurrence of non-smooth course of pseudotuberculosis in children

O.L. Nosareva*, A.P. Pomogaeva, E.A. Stepovaya, E.V. Shakhristova, R.M. Karpov
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Background. Currently, pseudotuberculosis is characterized by a high incidence in children and it is the second acute intestinal infection by frequency after shigellosis. The search for relationships between early changes in cell metabolism, dysfunctions of some organs and body systems under the pathogenic effect of an infectious agent and the severity, the occurrence of a non-smooth course of pseudotuberculosis in children is relevant.

Aim. Search for biochemical markers to predict the severity and occurrence of a non-smooth variant of the course of pseudotuberculosis in children.

Material and methods. A prospective study was performed in 125 patients with pseudotuberculosis during periods of the disease height, early convalescence and recovery: 17 patients with mild severity and a smooth course of the disease; 64 — with moderate severity and smooth course of the disease; 28 — with moderate severity and non-smooth course, 16 — with high severity and non-smooth course of the disease. The comparison group consisted of 45 children from the IIA health group. The distribution of the examined children by sex was equal, the age ranged from 9 to 13 years. The spectrophotometric method determined the following: in blood plasma — the content of malondialdehyde; in erythrocytes — the concentration of reduced glutathione, the activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase and catalase. The following ratios were calculated: reduced glutathione/malondialdehyde, reduced glutathione/glutathione reductase, reduced glutathione/glutathione peroxidase, reduced glutathione/glutathione S-transferase, glutathione peroxidase/catalase. Normality of the obtained data distribution was checked using the Shapiro–Wilk test, and the statistical hypotheses about the difference between the studied groups were checked using the nonparametric Mann–Whitney test at a significance level of $p < 0.05$.

Results. In the acute period of the disease, based on the analysis, a statistically significant decrease in the ratios of reduced glutathione/malonic dialdehyde, reduced glutathione/glutathione reductase, reduced glutathione/glutathione peroxidase by 3.0, 3.5 and 3.1 times, respectively, was established ($p < 0.05$) in patients with mild severity and smooth course; 5.3, 5.1 and 3.8 times ($p < 0.05$) — with moderate severity and smooth course; 5.8, 4.0 and 3.0 times ($p < 0.05$) — with moderate severity and non-smooth course; by 8.1 and 6.1 times ($p < 0.05$) — with heavy severity and non-smooth course relative to control values. However, during the period of early convalescence of a non-smooth course, these indicators significantly decreased by 2.2, 4.4 and 1.8 times ($p < 0.05$) in patients with moderate severity and by 3.4, 6.8 and 2.2 times ($p < 0.05$) — with heavy severity relative to control values.

Conclusion. Prognostically significant criteria for an increase in the severity and occurrence of a non-smooth course of pseudotuberculosis in children in the acute period of the disease are a decrease in the ratios of reduced glutathione/malonic dialdehyde less than 17.0, reduced glutathione/glutathione reductase below 38.0 and reduced glutathione/glutathione peroxidase less than 12.0.

Keywords: children, pseudotuberculosis, oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant system, glutathione system.

For citation: Nosareva OL, Pomogaeva AP, Stepovaya EA, Shakhristova EV, Karpov RM. Biochemical markers of the severity and occurrence of non-smooth course of pseudotuberculosis in children. *Kazan Medical Journal*. 2022;103(2):211–220. DOI: 10.17816/KMJ2022-211.

Актуальность

В настоящее время особую актуальность приобретают исследования, позволяющие выявить ранние изменения метаболизма клеток, нарушение функций отдельных органов и систем организма при патогенном воздействии инфекционного агента. Известно, что развитие инфекционного процесса сопряжено с активацией свободнорадикальных процессов и формированием окислительного стресса, проявления которого зависят во многом от мощности антиоксидантной системы организма [1–3].

Псевдотуберкулёз (ПТ) — острое кишечное инфекционное сапрозоонозное заболевание. У возбудителя *Yersinia pseudotuberculosis* присутствует целый ряд токсинов: термостабильный и термолабильный энтеротоксины, цитотоксин, факторы, нарушающие проницаемость сосудов кожи (ранний и поздний), а также летальный токсин, способствующие при внедрении бактерии не только усиленной генерации эффекторными клетками макроорганизма активных форм кислорода, но и нарушению проницаемости сосудов и микроциркуляции органов [4, 5].

Особенность течения ПТ у детей — развитие негладкого течения (до 55% случаев), даже при своевременно назначенной антибиотикотерапии [6]. Изучение влияния продуктов свободнорадикального окисления при внедрении *Yersinia pseudotuberculosis* на компоненты антиоксидантной защиты клетки позволит выявить факторы, способствующие возникновению более тяжёлого и негладкого течения воспаления. В современных условиях в клинической лабораторной диагностике актуален поиск биохимических маркёров и закономерностей их изменения, позволяющих прогнозировать в острый период болезни возникновение более выраженной тяжести заболевания, а при угасании клинических симптомов — возможность возникновения рецидива воспалительного процесса.

Цель

Цель исследования — поиск биохимических маркёров для прогнозирования увеличения тяжести и негладкого варианта течения ПТ у детей.

Материал и методы исследования

В проспективное исследование были включены 125 больных ПТ, госпитализированных в детскую инфекционную больницу им. заслуженного врача РФ Г.Е. Сибирцева г. Томска. Все пациенты были разделены на четыре группы:

- первая группа — 17 пациентов (средний возраст $9,96 \pm 0,56$ года) с лёгкой степенью тяжести и гладким течением заболевания;
- вторая группа — 64 пациента (средний возраст $10,39 \pm 0,43$ года) со средней степенью тяжести и гладким течением болезни;
- третья группа — 28 пациентов (средний возраст $11,00 \pm 0,71$ года) со средней степенью тяжести и негладким течением;
- четвёртая группа — 16 больных (средний возраст $12,00 \pm 0,55$ года) с тяжёлой степенью тяжести и негладким течением заболевания.

Диагноз ПТ соответствовал современным стандартам диагностики [7]. Распределение детей по полу было одинаковым. У 77,4% детей заболевание было расценено как спорадическое. Больных госпитализировали в течение всего года, но 78,0% из них — в период с февраля по июнь. Пациенты получали общепринятую терапию.

Группа сравнения (контроль) была сформирована из 45 детей (средний возраст $9,98 \pm 0,44$ года) с группой здоровья ПА.

Исследование выполнено в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований Хельсинской декларации Всемирной организации здравоохранения

и одобрено этическим комитетом при Сибирском государственном медицинском университете (протокол №4267 от 21.09.2015).

Путём пункции локтевой вены утром натощак забирали кровь в количестве 5 мл с добавлением гепарина натрия (25 ЕД/мл). Далее получали плазму крови и эритроциты методом центрифугирования при 3000 об./мин (СМ-6 ELMI, Латвия) в течение 15 мин. Плазму крови использовали для определения содержания малонового диальдегида (МДА). Осадок эритроцитов трижды промывали холодным 0,9% раствором натрия хлорида, далее готовили лизаты с помощью холодной дистиллированной воды: 1:10 — для определения содержания восстановленного глутатиона (ВГ) и активности глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (GST); 1:200 — для определения активности каталазы (КАТ) и глутатионпероксидазы (ГПО).

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов оценивали по концентрации МДА, образующего триметиновый комплекс с тиобарбитуровой кислотой с максимумом поглощения при 532 нм [8].

Неферментативное звено антиоксидантной защиты изучали путём определения содержания ВГ по реакции SH-групп трипептида с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной кислотой) и образованию продукта с максимумом поглощения при 412 нм после предварительного осаждения белков 5% раствором сульфосалициловой кислоты; ферментативное звено — с помощью определения активности ГР (КФ 1.8.1.7) по НАДФН-зависимому¹ превращению окисленной формы глутатиона в восстановленную, ГПО (КФ 1.11.1.9) — по способности фермента катализировать реакцию взаимодействия ВГ с гидроперекисью т-бутила; GST (КФ 2.5.1.18) — методом, основанным на скорости образования глутатион-S-2,4-динитробензола в реакции между ВГ и 1-хлор-2,4-динитробензолом; КАТ (КФ 1.11.1.6) — по скорости утилизации водорода пероксида в реакционной смеси [9].

Концентрацию белка в пробах определяли биуретовым методом согласно протоколу производителя Протеин-Ново (Вектор-Бест, Новосибирск). Оптическую плотность проб регистрировали на спектрофотометре СФ-2000-02 (Спектр, Россия). Затем на основе полученных результатов проводили расчёт величин интегральных показателей: ВГ/МДА, ВГ/ГР, ВГ/ГПО, ВГ/GST, ГПО/КАТ.

¹НАДФН — никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма).

Таблица 1. Содержание малонового диальдегида в плазме крови, восстановленного глутатиона и активность каталазы в эритроцитах у детей, больных псевдотуберкулёзом с различной степенью тяжести, гладким и негладким течением, Ме ($Q_{25\%}$ – $Q_{75\%}$)

| Группы детей | Период болезни | Малоновый диальдегид, мкмоль/л | Восстановленный глутатион, мкмоль/л | Каталаза, ммоль/мин×г белка |
|------------------------|----------------|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Контроль, n=45 | | 2,58 (2,32–2,73) | 120,03 (115,02–146,00) | 1,56 (1,35–1,82) |
| Первая группа, n=17 | ОП | 5,45 (4,78–5,90)* | 86,00 (78,12–88,09)* | 2,34 (2,12–2,37)* |
| | В | 2,87 (2,39–3,05) | 95,33 (93,01–99,20)* | 1,48 (1,35–1,80) |
| Вторая группа, n=64 | ОП | 6,07 (5,30–7,05)* | 58,50 (55,10–66,00)*• | 2,73 (2,48–3,03)* |
| | В | 3,00 (2,64–3,23) | 89,00 (84,00–94,00)* | 1,33 (0,96–1,56) |
| Третья группа, n=28 | ОП | 6,50 (6,12–6,90)* | 59,00 (55,00–61,01)*• | 2,85 (2,70–3,57)*• |
| | РР | 3,68 (3,45–3,90)* | 81,50 (74,00–89,00)* | 2,60 (2,47–2,73)* |
| | В | 3,64 (2,96–3,90)* | 90,50 (89,10–98,00)* | 1,77 (1,53–1,78) |
| Четвёртая группа, n=16 | ОП | 8,59 (7,05–8,97)*• | 55,00 (54,05–56,00)*• | 2,64 (2,60–2,73)* |
| | РР | 4,20 (4,01–4,50)* | 62,00 (60,00–65,00)* | 2,73 (2,70–2,77)* |
| | В | 2,90 (2,83–3,02)* | 79,00 (77,50–80,00)* | 1,56 (1,35–1,78) |

Примечание: ОП — острый период; В — период выздоровления; РР — период ранней реконвалесценции; p < 0,05 — *по сравнению с контролем, •по сравнению с первой группой.

Таблица 2. Активность глутатион-зависимых ферментов в эритроцитах у детей, больных псевдотуберкулёзом с различной степенью тяжести, гладким и негладким течением, Ме ($Q_{25\%}$ – $Q_{75\%}$)

| Группы детей | Период болезни | Глутатионредуктаза, мкмоль/мин×г белка | Глутатионпероксидаза, моль/мин×г белка | Глутатион-S-трансфераза, мкмоль/мин×г белка |
|------------------------|----------------|--|--|---|
| Контроль, n=45 | | 0,90 (0,42–1,23) | 4,20 (3,32–4,94) | 0,92 (0,38–1,39) |
| Первая группа, n=17 | ОП | 2,18 (2,12–2,33)* | 6,89 (6,68–7,83)* | 2,76 (2,54–2,78)* |
| | В | 1,13 (0,90–1,30) | 4,01 (3,32–4,95) | 1,19 (0,87–1,77) |
| Вторая группа, n=64 | ОП | 2,45 (2,30–2,70)* | 6,50 (6,01–8,11)* | 3,01 (2,78–3,70)*• |
| | В | 1,40 (1,12–1,56) | 3,99 (3,52–4,20) | 1,07 (0,87–1,39) |
| Третья группа, n=28 | ОП | 1,93 (1,67–2,16)*• | 5,90 (4,70–6,29)* | 2,42 (2,10–2,78)* |
| | РР | 3,32 (2,03–4,62)* | 4,30 (4,10–4,50) | 2,75 (2,60–2,90)* |
| | В | 1,01 (0,98–1,23) | 3,13 (2,27–4,01) | 1,27 (1,23–1,77) |
| Четвёртая группа, n=16 | ОП | 2,56 (2,47–2,60)* | 1,98 (1,80–2,54)*• | 1,23 (1,09–1,34) |
| | РР | 3,10 (3,09–3,12)* | 3,98 (3,83–4,01) | 1,34 (1,23–1,45) |
| | В | 3,91 (3,09–3,99)* | 2,10 (1,46–2,13)* | 2,16 (2,01–2,73)* |

Примечание: ОП — острый период; В — период выздоровления; РР — период ранней реконвалесценции; p < 0,05 — *по сравнению с контролем, •по сравнению с первой группой, ■по сравнению со второй группой.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием программы Statistica 6.0. Результаты представляли в виде медианы (Ме), верхнего и нижнего квартилей ($Q_{25\%}$ – $Q_{75\%}$). Проверка полученных данных на нормальность распределения осуществлена с использованием критерия Шапиро–Уилка. Для проверки статистических гипотез о различии между исследуемыми группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни вследствие несоответствия выборок нормальному распределению. Статистически значимыми считали различия при p < 0,05.

Результаты

Острый период инфекционного воспаления сопровождался активной наработкой продуктов перекисного окисления и расходом ВГ на снижение их повреждающего эффекта. Наряду с этим происходила активация глутатион-зависимых ферментов и КАТ. Нами было показано значимое увеличение концентрации МДА (p < 0,05) в плазме крови и снижение содержания ВГ (p < 0,05) в эритроцитах пропорционально степени тяжести ПТ у детей относительно результатов, полученных в контрольной группе (табл. 1, 2).

Таблица 3. Интегральные показатели у детей, больных псевдотуберкулезом с различной степенью тяжести, гладким и негладким течением, Me ($Q_{25\%}$ – $Q_{75\%}$)

| Группы детей | Период болезни | ВГ/МДА | ВГ/ГР | ВГ/ГПО |
|------------------------|----------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| Контроль, n=45 | | 49,68 (42,40–55,74) | 131,58 (95,24–170,08) | 34,53 (25,25–42,22) |
| Первая группа, n=17 | ОП | 16,32 (13,64–17,49)* | 37,61 (36,45–40,18)* | 11,32 (10,35–12,69)* |
| | В | 33,28 (31,15–40,34) | 86,38 (73,85–105,03) | 23,50 (19,45–28,65) |
| Вторая группа, n=64 | ОП | 9,31 (8,08–11,86)* | 25,88 (22,92–29,18)* | 9,13 (7,52–10,56)* |
| | В | 29,96 (25,83–34,57)* | 63,57 (56,54–83,81)* | 23,66 (19,46–27,03)* |
| Третья группа, n=28 | ОП | 8,60 (8,36–9,52)* | 32,94 (25,21–34,38)* | 11,47 (9,54–11,70)* |
| | РР | 22,39 (18,97–25,80)* | 29,94 (16,03–43,84)* | 18,91 (18,05–19,78)* |
| | В | 27,57 (23,64–32,13)* | 84,73 (79,67–89,45) | 30,75 (24,16–43,27) |
| Четвёртая группа, n=16 | ОП | 6,13 (5,82–7,66)* | 21,48 (19,23–21,86)* | 27,27 (21,65–27,78) |
| | РР | 14,44 (14,29–14,96)* | 19,35 (19,23–21,04)* | 15,79 (14,96–16,33)* |
| | В | 27,59 (26,16–28,21)* | 20,20 (19,80–25,89)* | 38,28 (37,09–54,48) |

Примечание: ВГ — восстановленный глутатион; МДА — малоновый диальдегид; ГР — глутатионредуктаза; ГПО — глутатионпероксидаза; ОП — острый период; В — период выздоровления; РР — период ранней реконвалесценции; * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Ответной реакцией на снижение концентрации ВГ было значимое увеличение активности ГР ($p < 0,05$) в эритроцитах по отношению к контрольному значению. При этом при увеличении тяжести воспалительного процесса возникал дисбаланс в работе ферментов, использующих ВГ в качестве одного из субстратов реакции — ГПО и GST, вероятнее всего, из-за его недостатка и/или повреждающего действия активных кислородных метаболитов на молекулы ферментов (см. табл. 1, 2). В период ранней реконвалесценции, который соответствовал угасанию клинических симптомов, у детей со средней и тяжёлой степенью тяжести ПТ в плазме крови происходило значимое увеличение содержания МДА, в эритроцитах зафиксировано значимое снижение концентрации ВГ, повышение активности КАТ и ГР на фоне сопоставимых значений ГПО и GST относительно результатов, полученных в контрольной группе (см. табл. 1, 2).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при нарастании степени тяжести инфекционного процесса происходило формирование более выраженного окислительного стресса в организме ребёнка, и при этом от адекватности функционирования внутриклеточных антиоксидантных систем зависели прогноз и исход заболевания.

На следующем этапе работы мы рассчитали соотношения полученных показателей с целью поиска закономерностей их изменения в соответствии с тяжестью инфекционного процесса. В разгар клинической симптоматики лёгкой

степени тяжести ПТ нами были зафиксированы самые минимальные изменения расчётных величин соотношений по сравнению с аналогичными значениями в контрольной группе детей: значимое снижение величины соотношения ВГ/МДА в 3,0 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГР — в 3,5 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГПО — в 3,1 раза ($p < 0,05$), ВГ/GST — в 4,4 раза ($p < 0,05$). Фаза выздоровления у пациентов с лёгкой степенью ПТ характеризовалась отсутствием значимых различий всех расчётных величин по сравнению с показателями у здоровых детей (табл. 3, 4).

Острый период гладкого течения ПТ средней степени тяжести характеризовался более значимым снижением величин интегральных показателей: ВГ/МДА — в 5,3 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГР — в 5,1 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГПО — в 3,8 раза ($p < 0,05$), ВГ/GST — в 7,0 раз ($p < 0,05$) относительно аналогичных значений у детей контрольной группы. В период выздоровления у пациентов с гладким течением средней степени тяжести ПТ происходило увеличение всех изучаемых интегральных показателей, но значений контрольной группы они не достигали, и при этом были значимо снижены ($p < 0,05$) величины соотношений ВГ/МДА, ВГ/ГР и ВГ/ГПО на фоне сопоставимых показателей ВГ/GST и ГПО/КАТ относительно аналогичных значений, полученных у здоровых детей (см. табл. 3, 4).

При негладком течении ПТ средней степени тяжести в острый период произошло значимое снижение величины соотношения ВГ/МДА в 5,8 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГР — в 4,0 раза ($p < 0,05$),

Таблица 4. Интегральные показатели у детей, больных псевдотуберкулёзом с различной степенью тяжести, гладким и негладким течением, Me ($Q_{25\%}$ – $Q_{75\%}$)

| Группы детей | Период болезни | ВГ/GST | ГПО/КАТ |
|--------------------------|----------------|-----------------------|-------------------|
| Контрольная группа, n=45 | | 138,73 (84,99–202,47) | 2,57 (1,89–3,27) |
| Первая группа, n=17 | ОП | 31,30 (25,91–34,65)* | 3,14 (2,82–3,36) |
| | В | 88,45 (53,82–109,83) | 2,81 (2,31–3,27) |
| Вторая группа, n=64 | ОП | 19,93 (17,70–22,08)* | 2,45 (2,08–3,22) |
| | В | 77,88 (65,71–112,14) | 2,97 (2,44–4,26) |
| Третья группа, n=28 | ОП | 22,92 (21,58–26,32)* | 1,52 (1,32–2,62) |
| | РР | 29,87 (25,52–34,23)* | 1,66 (1,50–1,82) |
| | В | 71,53 (60,47–73,25)* | 1,80 (1,32–2,27) |
| Четвёртая группа, n=16 | ОП | 43,90 (41,04–45,87)* | 0,73 (0,68–0,96)* |
| | РР | 44,78 (41,38–52,85)* | 1,47 (1,35–1,52)* |
| | В | 37,77 (28,94–40,98)* | 1,36 (0,81–1,55)* |

Примечание: ВГ — восстановленный глутатион; GST — глутатион-S-трансфераза; ГПО — глутатионпероксидаза; КАТ — каталаза; ОП — острый период; В — период выздоровления; РР — период ранней реконвалесценции; * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

ВГ/ГПО — в 3,0 раза ($p < 0,05$), ВГ/GST — в 6,1 раза ($p < 0,05$) относительно показателя в контрольной группе. При угасании клинической симптоматики в период ранней реконвалесценции происходило повышение значений расчётных показателей, но они также были значимо ниже соответствующих величин у детей контрольной группы: ВГ/МДА — в 2,2 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГР — в 4,4 раза ($p < 0,05$), ВГ/ГПО — в 1,8 раза ($p < 0,05$), ВГ/GST — в 4,6 раза ($p < 0,05$). Фаза выздоровления у этих пациентов характеризовалась сопоставимыми величинами интегральных показателей ВГ/ГР и ВГ/ГПО, а величины ВГ/МДА (в 1,8 раза; $p < 0,05$) и ВГ/GST (в 1,9 раза; $p < 0,05$) были ниже значений, полученных у здоровых детей (см. табл. 3, 4).

Во всех описанных группах (первой, второй и третьей) у обследованных пациентов как в острый период и в период ранней реконвалесценции, так и в фазу выздоровления значение величины соотношения ГПО/КАТ было сопоставимо с аналогичным показателем у детей контрольной группы (см. табл. 3, 4).

Самое низкое значение величин соотношений ВГ/МДА и ВГ/ГР зарегистрировано в острый период негладкого течения ПТ тяжёлой степени, оно было значимо ниже соответствующих параметров у здоровых детей — в 8,1 раза ($p < 0,05$) и 6,1 раза ($p < 0,05$) соответственно. Изучаемые показатели у больных оставались значимо ниже в период ранней реконвалесценции — в 3,4 раза ($p < 0,05$) и 6,8 раза ($p < 0,05$), а также в фазу выздоровления — в 1,8 раза ($p < 0,05$) и в 6,5 раза ($p < 0,05$)

соответственно относительно значений, полученных в контрольной группе детей (см. табл. 3).

Интегральный показатель ВГ/ГПО в острый период и в фазу выздоровления негладкого течения тяжёлой степени ПТ имел сопоставимые значения, а в период ранней реконвалесценции был значимо ниже — в 2,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями у здоровых детей (см. табл. 3).

Динамика изменения величины соотношения ВГ/GST у детей этой группы была иной, чем у пациентов с лёгкой и средней степенью заболевания. Так, в разгар клинической симптоматики значение величины соотношения ВГ/GST было значимо ниже — в 3,2 раза ($p < 0,05$), в фазу ранней реконвалесценции — в 3,1 раза ($p < 0,05$), а при выздоровлении — в 3,7 раза относительно контрольного результата (см. табл. 4).

Помимо этого, при негладком течении тяжёлой степени ПТ нами были установлены самые низкие значения величины соотношения ГПО/КАТ относительно контрольных величин: в острый период — снижение в 3,5 раза ($p < 0,05$), в период ранней реконвалесценции — в 1,7 раза ($p < 0,05$), в фазу выздоровления — в 1,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателем, полученным у здоровых детей (см. табл. 4).

Обсуждение

Большое разнообразие прооксидантов и антиоксидантов, специфичность последних по отношению к определённым активным формам кислорода создают трудности их определения

в системах как *in vitro*, так и *in vivo*. На основании того, что полученные результаты имеют функциональную взаимосвязь, нами было принято решение вычислить величины интегральных соотношений и сопоставить полученные результаты со степенью и течением ПТ у детей с целью обоснования их прогностической значимости. Эти расчётные величины позволяют охарактеризовать активность антиоксидантных систем при разных степенях тяжести и течении воспалительного процесса у детей.

Плазматическая мембрана выполняет основную барьерную функцию [10], защищая клетку от действия прооксидантов и токсинов инфекционного агента. Структурно-функциональные перестройки мембраны вследствие усиления активности процессов перекисного окисления липидов способствуют изменению её барьерных свойств [11, 12]. Учитывая, что вероятность диффузии из клетки МДА во внеклеточную жидкость (в том числе в плазму крови) одинакова [13] и что основным компонентом антиоксидантной защиты эритроцита служит ВГ [14, 15], был предложен интегральный показатель отношения концентрации ВГ в эритроцитах к содержанию МДА в плазме крови.

Ферментативное звено системы глутатиона представлено основными ферментами: ГПО, GST и ГР [3, 16–19]. Расчётный показатель «содержание ВГ эритроциты/активность ГР эритроциты» позволил оценить адекватность регенерации окисленной формы глутатиона в восстановленную, а величины соотношений «содержание ВГ эритроциты/активность ГПО эритроциты» и «содержание ВГ эритроциты/активность GST эритроциты» отражали не только достаточность поступления ВГ в качестве одного из субстратов реакций, но и, в случае работы GST, мощность детоксикационной функции организма. Соотношение величин эритроцитарной активности ГПО и КАТ показывало вклад одного из ферментов в обезвреживание перекисей в клетке.

Анализ данных, полученных в динамике ПТ при различных степенях тяжести и вариантах течения у детей, позволил чётко установить угнетение функциональной активности системы глутатиона в целом как в острый период, так и в период ранней реконвалесценции, а также отсутствие нормализации показателей в фазу выздоровления при исчезновении клинических симптомов болезни.

На основании полученных данных и постоянного динамики выявленных изменений можно выделить интегральные соотношения для прогнозирования тяжести и характера течения заболевания у детей. Самыми значимыми

в прогнозе развития негладкого течения ПТ интегральными показателями являются ВГ/МДА, ГПО/КАТ и ВГ/ГР. Чем тяжелее была степень ПТ, тем меньшие значения величины этих соотношений были нами зарегистрированы. В период ранней реконвалесценции заболевания у больных при угасании клинических симптомов о формировании негладкого течения средней и тяжёлой степени ПТ свидетельствовали низкие значения изучаемых величин соотношений по сравнению с показателями этих же величин у здоровых детей.

На основании анализа величин соотношения активностей ГПО и КАТ можно определить вклад каждого из этих ферментов в утилизацию пероксида водорода в эритроцитах при остром воспалении. Сопоставимые значения индекса ГПО/КАТ на начальном этапе заболевания по сравнению с контрольной величиной указывают на больший вклад ГПО в утилизацию водорода пероксида, чем КАТ. Снижение соотношения указывает, наоборот, на преобладание активности КАТ над ГПО, что проявляется при увеличении тяжести клинических проявлений ПТ.

По этой причине при изучении изменения величины ГПО/КАТ следует обратить внимание на то обстоятельство, что отсутствие увеличения индекса в период ранней реконвалесценции может быть прогностически неблагоприятным признаком возникновения негладкого течения ПТ, а снижение этого показателя в период разгара клинической симптоматики указывает на формирование самой тяжёлой степени ПТ.

Таким образом, при негладком течении тяжёлой степени ПТ низкое значение величины соотношения ГПО/КАТ указывало не только на преобладающее увеличение активности КАТ, но и на высокий уровень H_2O_2 в клетке и возможность проявления повреждающего действия этой активной формы кислорода на внутриклеточные органеллы и плазматическую мембрану клетки.

Выявленная динамика изменения величины соотношения ВГ/ГПО при негладком течении ПТ, вероятно, связана с более выраженным окислительным стрессом, результатом чего становится ингибирование ГПО активными кислородными метаболитами и закислением внутриклеточной среды в острый период болезни. Адекватная работа ГПО в глутатионовой системе может осуществляться только при своевременной активной регенерации окисленного глутатиона в глутатионредуктазной реакции [16, 17, 19].

Из вышесказанного следует, что не только накопление продуктов перекисидации липидов, но и уровень ВГ в клетках существенно влияет на тяжесть ПТ у детей, а показатель его содержания в эритроцитах у больных высокоинформативен в прогнозировании негладкого течения среднетяжёлой и тяжёлой форм заболевания уже в начальный период.

Пациенты со среднетяжёлой формой ПТ составляли основную долю заболевших детей, поэтому наиболее важно выявление критериев, способствующих прогнозированию негладкого течения болезни. Среди описанных интегральных показателей лучшим критерием прогноза служила величина соотношения ВГ/МДА, поскольку в случае негладкого течения болезни средней и тяжёлой степени при исчезновении клинических симптомов в период ранней реконвалесценции регистрировалось значимое снижение только величины указанного индекса. В фазу выздоровления данный показатель у пациентов со средней и тяжёлой степенью ПТ повышался, но значений контроля не достигал.

Выявленные закономерности позволяют использовать расчёт индекса ВГ/МДА для прогноза динамики и оценки тяжести ПТ у детей в начальный период заболевания. Концентрацию МДА определяли в плазме крови, следовательно, оценивали состояние процессов перекисного окисления липидов в организме в целом. Интерпретация полученных результатов в эритроцитах крови отражает внутриклеточные процессы поддержания антиоксидантного баланса.

Определение уровня ВГ и МДА технически просто и экономически выгодно, не требует использования дорогостоящих оборудования и реактивов, его можно проводить в обычных клинико-диагностических лабораториях. Для выполнения анализа не требуется дополнительного взятия крови, так как можно использовать плазму крови и эритроцитарную массу после стандартных методик (коагулограмма) с применением гепаринизированной крови пациента. Использование эритроцитов позволяет получить достаточное количество материала для исследования. Всё это делает определение величины соотношения показателей ВГ и МДА весьма перспективным для широкого внедрения в клиническую практику.

Заключение

Таким образом, оценивая интегральные показатели соотношения ВГ и МДА, ВГ и ГПО, ВГ и ГР, ГПО и КАТ на начальном этапе заболевания и в период ранней реконвалесценции, мож-

но прогнозировать характер течения ПТ и при необходимости эффективно назначить дополнительную коррекционную антиоксидантную терапию.

На основании полученных нами данных прогностически ценными критериями увеличения степени тяжести и возникновения негладкого течения заболевания служат снижение в острый период ПТ абсолютных величин соотношений ВГ/МДА ниже 17,0, ВГ/ГР — ниже 38,0, ВГ/ГПО — ниже 12,0, а также отсутствие восстановления указанных индексов до контрольных значений в период ранней реконвалесценции.

При выявлении снижения содержания ВГ в эритроцитах в острый период ПТ необходимо в дальнейшем определять при угасании клинических симптомов полный спектр показателей системы глутатиона (содержание ВГ, активность ГР и ГПО) и активность КАТ для выявления степени дисбаланса ферментативного звена антиоксидантной защиты у детей со среднетяжёлой и тяжёлой формами ПТ с целью прогнозирования варианта течения болезни.

Вывод

Прогностически значимые критерии увеличения степени тяжести и возникновения негладкого течения псевдотуберкулёза у детей: в острый период заболевания — снижение абсолютных величин соотношений восстановленный глутатион/малоновый диальдегид менее 17,0, восстановленный глутатион/глутатионредуктаза ниже 38,0 и восстановленный глутатион/глутатионпероксидаза менее 12,0; в период ранней реконвалесценции — отсутствие увеличения указанных индексов.

Участие авторов. О.Л.Н., А.П.П. и С.Е.А. — концепция и дизайн исследования, редактирование; О.Л.Н. — сбор и обработка материалов, написание текста; О.Л.Н., Е.В.Ш. и К.Р.М. — написание текста, обзор литературы.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lei Y, Wang K, Deng L, Chen Y, Nice EC, Huang C. Redox regulation of inflammation: old elements, a new story. *Med Res Rev.* 2015;35(2):306–340. DOI: 10.1002/med.21330.
2. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания.* Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2017. 284 с.

[Men'shchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar' IA, Trufakin VA. *Okislitel'nyy stress. Patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya*. (Oxidative stress. Pathological states and diseases.) Novosibirsk: Sibirskoe universitetskoe izdatel'stvo; 2017. 284 p. (In Russ.)]

3. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):532–553. DOI: 10.1159/000485089.

4. Kuznetsova TA, Somova LM, Plekhova NG, Drobot EI. Pathogenetic role of *Yersinia pseudotuberculosis* endotoxin in hemostasis and microcirculation disturbances. *Bull Exp Biol Med*. 2011;150(5):619–623. DOI: 10.1007/s10517-011-1205-3.

5. Grabowski B, Schmidt MA, Rüter C. Immunomodulatory *Yersinia* outer proteins (Yops) — useful tools for bacteria and humans alike. *Virulence*. 2017;8(7):1124–1147. DOI: 10.1080/21505594.2017.

6. Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Иерсиниоз: расширение традиционные представления о диагностике, лечении и диспансеризации больных. *Лечащий врач*. 2010;(10):26–33. [Shestakova IV, Yushchuk ND. Yersiniosis: extending traditional notions of diagnosis, treatment and clinical examination of patients. *Lechashchiy vrach*. 2010;(10):26–33. (In Russ.)]

7. Учайкин В.Ф., Гордеев А.В., Бениова С.Н. *Иерсиниозы у детей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2005. 141 с. [Uchaykin VF, Gordeets AV, Beniova SN. *Iersiniozy u detey*. (Yersiniosis in children.) Moscow: GEOTAR-Media; 2005. 141 p. (In Russ.)]

8. Владимиров Ю.А., Арчаков А.К. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах*. М.: Наука; 1972. 226 с. [Vladimirov YuA, Archakov AK. *Perekisnoye okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh*. (Lipid peroxidation in biological membranes.) Moscow: Nauka; 1972. 226 p. (In Russ.)]

9. *Медицинские лабораторные технологии*. Под ред. А.И. Карпищенко. Т. 2. СПб.: Интермедика; 1998. 656 с. [*Meditsinskie laboratornye tekhnologii*. (Medical laboratory techniques.) Karpishchenko AI, editor. Vol. 2. St. Petersburg: Intermedika; 1998. 656 p. (In Russ.)]

10. Agmon E, Stockwell BR. Lipid homeostasis and regulated cell death. *Curr Opin Chem Biol*. 2017;39:83–89. DOI: 10.1016/j.cbpa.2017.06.002.

11. Greene LE, Lincoln R, Cosa G. Rate of lipid peroxyl radical production during cellular homeosta-

sis unraveled via fluorescence imaging. *J Am Chem Soc*. 2017;139(44):15801–15811. DOI: 10.1021/jacs.7b08036.

12. Libardo MDJ, Wang TY, Pellois JP, Angeles-Boza AM. How does membrane oxidation affect cell delivery and cell killing? *Trends Biotechnol*. 2017;35(8):686–690. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.03.015.

13. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. *Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты*. М.: МАИК Наука/Интерпериодика; 2001. 343 с. [Zenzov NK, Lankin VZ, Men'shchikova EB. *Okislitel'nyy stress: Biokhimicheskiy i patofiziologicheskii aspekty*. (Oxidative stress: biochemical and pathophysiological aspects.) Moscow: MAIK Nauka/Interperiodika; 2001. 343 p. (In Russ.)]

14. Van 't Erve TJ, Wagner BA, Ryckman KK, Raife TJ, Buettner GR. The concentration of glutathione in human erythrocytes is a heritable trait. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:742–749. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.002.

15. Teixeira P, Napoleão P, Saldanha C. S-nitrosoglutathione efflux in the erythrocyte. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2015;60(4):397–404. DOI: 10.3233/CH-141855.

16. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. *Биомедицинская химия*. 2009;55(3):255–277. [Kulinskiy VI, Kolesnichenko LS. Glutathione system. I. Synthesis, transport, glutathione transferases, glutathione peroxidases. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2009;55(3):255–277. (In Russ.)]

17. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. *Успехи биологической химии*. 2014;54:299–348. [Kalini-na EV, Chernov NN, Novichkova MD. The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2014;54:299–348. (In Russ.)]

18. Zuo L, Zhou T, Pannell BK, Ziegler AC, Best TM. Biological and physiological role of reactive oxygen species the good, the bad and the ugly. *Acta physiologica*. 2015;214(3):329–348. DOI: 10.1111/apha.12515.

19. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med*. 2016;95:27–42. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028.

Сведения об авторах

Носарева Ольга Леонидовна, докт. мед. наук, доц., проф., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет; olnosareva@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7441-5554>

Помогаева Альбина Петровна, докт. мед. наук, проф., каф. детских болезней, Сибирский государственный медицинский университет; pomogaevaap@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4883-2028>

Степовая Елена Алексеевна, докт. мед. наук, проф., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет; muir@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Шахристова Евгения Викторовна, канд. мед. наук, доц., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет; shaxristova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Карпов Руслан Мушвигович, студент, Сибирский государственный медицинский университет; kruslan147@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7233-1704>

Author details

Ol'ga L. Nosareva, M.D., Doct. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Depart. of biochemistry and molecular biology with course of clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University; olnosareva@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7441-5554>

Al'bina P. Pomogaeva, M.D., Dr. Sci. (Med.), Prof., Depart. of children diseases, Siberian State Medical University; pomogaevaap@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4883-2028>

Elena A. Stepovaya, M.D., Dr. Sci. (Med.), Prof., Depart. of biochemistry and molecular biology with course of clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University; muir@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Evgenija V. Shakhristova, M.D., Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Depart. of biochemistry and molecular biology with course of clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University; shaxristova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Ruslan M. Karpov, Stud., Siberian State Medical University; kruslan147@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7233-1704>