

## КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ АНТИТЕЛ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

*И.М. Филимонова, Л.М. Султанова*

*Кафедра госпитальной терапии с курсом врача общей практики (зав. — проф. И.Г. Салихов)  
Казанского государственного медицинского университета*

Сахарный диабет (СД) 1 типа (инсулинзависимый) в настоящее время рассматривается как аутоиммунное заболевание с деструкцией  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, развивающееся при наличии генетической предрасположенности и факторов внешней среды [7]. В детском возрасте СД характеризуется тяжестью, лабильностью течения, развитием осложнений, которые приводят в дальнейшем к инвалидизации больных в наиболее активном периоде их жизни. Развитие таких состояний во многом обусловлено изменениями иммунологической реактивности организма [5]. Исследователями отмечены многосторонние нарушения в желудочно-кишечном тракте при СД [1]. Генез этих нарушений окончательно не уточнен. Большинство авторов ведущим патогенетическим механизмом гастроэнтерологических нарушений признают диабетическую висцеральную нейропатию. Исследователями также отмечены изменения микробиоценоза кишечника. Так, по данным разных авторов, дисбактериоз выявляется у 87–100 % детей с СД 1 типа [4]. Микрофлора кишечника детей, страдающих СД, характеризуется нарушением как количественного, так и качественного состава компонентов, увеличением условно-патогенной и наличием патогенной микрофлоры [2].

Одной из функций нормальной микрофлоры кишечника является участие в формировании иммунологической реактивности организма, поэтому с учетом установленной тесной взаимосвязи между состоянием иммунной системы и микробиоценозом кишечника можно предположить, что нарушение иммунного и микробиологического статуса является одной из эндогенных причин, определяющих течение СД. Кишечник служит естественным резервуаром грамотрицательной флоры. Самообновление пула микрофлоры обуславливает освобождение биологически активного соединения эндотоксина, который выступает струк-

турным компонентом наружной мембраны всех грамотрицательных микроорганизмов. Кроме того, небольшое количество эндотоксина может освобождаться и живыми грамотрицательными бактериями, что в условиях многочисленности популяции *E.coli* создает достаточно высокую концентрацию эндотоксина в системном кровотоке. Принято считать, что при физиологических концентрациях эндотоксина реализуется его иммуномодуляторный эффект, при высоких — токсический [6]. Возможно, при СД организм использует свои резервные возможности путем увеличения всего спектра антител, в том числе противомикробных. Это может быть достигнуто за счет дополнительного поступления эндотоксина грамотрицательных бактерий в кровотоки и активации иммунитета.

С этих позиций представляет интерес изучение напряженности гуморального антибактериального и антиэндотоксинового иммунитета при СД 1 типа у детей.

В настоящее время установлено, что уровень антител к гликолипиду *Salmonella minnesota* (RE-595), несущему антигенную детерминанту против большинства липополисахаридов (эндотоксинов) грамотрицательных бактерий, является маркерным показателем, отражающим состояние иммунологической резистентности организма на фоне развития эндотоксинемии [8]. Считается, что кишечная микрофлора — основной источник эндотоксина, и на фоне дисбиотических процессов, при нарушении проницаемости слизистой кишечника и детоксикационной функции печени, развивается эндотоксинемия со всеми вытекающими отсюда последствиями. В этой связи концентрация антиэндотоксиновых и *E.coli* антител отражает степень иммунологической защиты организма, эти показатели могут быть использованы в диагностике и для прогнозирования протекания патологического процесса.

В отечественной и зарубежной литературе отсутствуют материалы по изучению напряженности специфического гуморального антибактериального и антиэндотоксинового иммунитета при СД.

Целью настоящего исследования было изучение этого явления с учетом возможности участия грамотрицательной микрофлоры кишечника и производимого ею эндотоксина в развитии многих патологических нарушений в различных органах и системах. Концентрацию антител определяли у 121 ребенка, больного СД 1 типа.

Обследованные были разделены по степени компенсации СД при поступлении на 3 группы. Критериями компенсации являются уровни глюкозы крови натощак и в течение дня, сахара в моче, отсутствие тяжелых гипогликемий и эпизодов кетоацидоза, нормальные темпы физического и полового развития. В 1-ю группу вошли 28 детей с компенсированной формой заболевания: 13 (46,3 %) мальчиков и 15 (53,7%) девочек в возрасте от 2 лет 9 месяцев до 15 лет 6 месяцев. Длительность болезни варьировала от одного месяца до 5 лет. Поздние сосудистые осложнения были диагностированы у 5 (17,8 %) обследованных (у 4 – ретинопатия и у одного – катаракта). У 11 детей диабету сопутствовал диффузный нетоксический зоб 1–2 степени (39,2 %), у 10 (35,7 %) – дискинезия желчевыводящих путей (ДЖВП), у 3 (10,7 %) – дисметаболическая нефропатия, у 1 (3,6 %) – функциональная кардиопатия.

Во 2-ю группу вошли 45 детей с субкомпенсированным СД: 21 (46,7%) мальчик и 24 (53,3%) девочки в возрасте от 3 лет до 15 лет 8 месяцев. Длительность заболевания – от одного месяца до 10 лет. 12 детей были обследованы однократно, 33 – в динамике. Поздние сосудистые осложнения были у 17 (37,7 %) детей: ретинопатия – у 14, катаракта – у 2, гепатоз – у одного, нефропатия – у одного. У 21 (46,6%) обследованного диагностирован диффузный нетоксический зоб 1–2 степени, у 26 (57,7%) – ДЖВП, у 17 (37,7%) – дисметаболическая нефропатия, у 2 (4,4%) – функциональная кардиопатия, у одного (2,2%) – киста мозга, у одного (2,2%) – ВСД.

В 3-ю группу включены 48 детей с декомпенсированным диабетом ВСД: 23 (47,9%) мальчика и 25 (52,1 %) девочек в возрасте от одного года 2 месяцев

до 15 лет 9 месяцев. 39 обследованы однократно, 9 – в динамике. Сосудистые осложнения имели место у 27 (56,2%) обследованных: ретинопатия – у 21, катаракта – у 7, гепатоз – у 9, нефропатия – у 4, липоидный нефроз – у 2. Диффузный нетоксический зоб был диагностирован у 26 (54,2%) детей, ДЖВП – у 27 (56,3%), дисметаболическая нефропатия – у 13 (27,1%), функциональная кардиопатия – у 3 (6,3%).

Первое исследование проводили при госпитализации, второе – на фоне лечения, третье – перед выпиской из стационара. Все дети с целью компенсации основного патологического процесса получали диету- и инсулинотерапию. Фармакологическая коррекция включала витамины, гепатопротекторы, ангиопротекторы, гипополидемиические препараты. Контролем служили показатели титров антител у 18 здоровых детей: у 8 (44,4 %) девочек и у 10 (55,6 %) мальчиков в возрасте от 3 до 14 лет.

О напряженности антибактериального гуморального иммунитета судили по концентрации антител к антигенам *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, а также к гликолипиду *Salmonella minnesota* (RE-595) методом твердофазного иммуоферментного анализа [3]. Для сенсibilизации планшетов в качестве антигенов использовали комплексные препараты, полученные путем ультразвуковой дезинтеграции соответствующих микроорганизмов. Антигены в концентрации от 5 до 12 мкг/мл растворяли в 0,01М бикарбонатном буфере (рН 9,6) и вносили в лунки планшета в объеме 220 мкл. После 18-часовой инкубации при 4°C планшеты промывали, блокировали 1% альбумином человека в течение одного часа, снова промывали, высушивали на воздухе и использовали в течение 4–5 месяцев.

Образцы исследуемых сывороток разволили в забуференном фосфатами физиологическом растворе (рН 7,2–7,4) с 0,05% Твин-80 в 40 раз и инкубировали в планшетах один час при 37°C. После промывания связавшиеся антитела выявляли конъюгатом белка А с пероксидазой хрена.

Хромогенную реакцию проводили с применением ортофенилендиамина в цитратном буфере (рН 5,0). Концентрацию антител в сыворотке рассчитывали по калибровочной кривой. В качестве калибратора использовали пул сыворо-

ток от 120 здоровых доноров с известным содержанием антител к исследуемым антигенам.

Для статистической обработки данных использовали программу SPSS Windows. Полученные результаты приведены в таблице.

Исследования показали (см. табл.), что независимо от степени компенсации и сроков обследования наблюдается повышение ( $P < 0,05$ ) уровня антител к гликолипиду (ГЛП) *Salmonella minnesota* (RE-595). Концентрация антител во всех группах была сопоставима ( $P < 0,05$ ) с контрольными значениями, за исключением исходного показателя у детей с декомпенсацией заболевания.

Перед выпиской наметилась тенденция ( $P < 0,01$ ) зависимости уровней антител от степени компенсации ( $11,6 \pm 1,4 - 13,9 \pm 2,0$  и  $18,4 \pm 4,0$ ).

Анализ концентрации *E.coli*-антител выявил аналогичные с антителами к ГЛП изменения — повышение их концентрации по сравнению с контролем ( $P < 0,05$ ), за исключением исходного показателя у детей с декомпенсацией заболевания.

Установлено, что для СД характерно повышение концентрации антиэндоксиновых антител, которое сохраняется после нормализации метаболических изменений основного заболевания. В то же время на высоте декомпенсации превышение контрольных значений не было значительным по сравнению с другими. Поэтому даже с учетом последующего возрастания напряженности антиэндоксинового иммунитета у больных этой группы можно констатировать снижение резистентности организма, в частности функциональной активности иммунитета.

Установленный впервые факт повышения концентрации ГЛП и *E.coli*-антител у детей с сахарным диабетом 1 типа обусловлен, вероятнее всего, избыточным поступлением эндотоксина и является следствием проявления его иммуногенных свойств. Не исключается, что более низкие показатели антиэндотоксिनотоксиновых антител при декомпенсации связаны со сниженной резистентностью организма. Независимо от тяжести патологического процесса могут встречаться как пониженные, так и повышенные значения показателей ГЛП и *E.coli* антител, что свидетельствует об индивидуальных особенностях больных и указывает на необходимость дифференцированного к ним подхода. В то же время общая тенденция изменения напряженности антиэндотоксिनотоксинового иммунитета при СД очевидно и безусловно требует проведения соответствующей коррекции в целях устранения как причины активации иммунитета, так и выявленных нарушений.

Состояние антиэндотоксिनотоксинового иммунитета, по мнению ряда авторов, отражает степень общей иммунологической реактивности организма, однако в наших исследованиях высокие уровни антител к ГЛП и *E.coli* не всегда сочетались с высоким уровнем антител к микробам других классов. Так, исследования концентрации антител к *Ps.aeruginosa* не выявили достоверных различий от степени компенсации при госпитализации. Однако после лечения установлено повышение уровня антител в группе компенсированного и декомпенсированного диабета ( $P < 0,05$ ). Показатели титров антител к *Pr. mirabilis* были повышены ( $P < 0,05$ ) при компенсированном и субкомпенсированном СД как

Концентрация противомикробных антител у детей с СД 1 типа

Антитела	Контроль	Концентрация антител при сахарном диабете различной компенсации								
		компенсированном			субкомпенсированном			декомпенсированном		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
ГЛП	7,8±0,2 (n=18)	12,6±1,5** (n=24)	—	11,6±1,4** (n=23)	14,6±2,3** (n=35)	14,3±2,4** (n=28)	13,9±2,0** (n=34)	10,6±1,5 (n=23)	15,2±3,2* (n=24)	18,4±4,0** (n=17)
<i>E. coli</i>	10,9±0,3 (n=18)	20,9±2,9** (n=24)	—	16,8±1,8** (n=23)	19,2±2,6** (n=35)	22,2±3,2** (n=28)	19,6±2,0** (n=34)	15,9±2,6 (n=23)	21,9±3,8* (n=24)	18,3±3,1** (n=17)
<i>Ps.aeruginosa</i>	5,9±0,3 (n=18)	7,9±1,6 (n=18)	—	10,5±1,6* (n=12)	8,1±2,2 (n=22)	6,1±1,3 (n=18)	7,8±0,9 (n=20)	4,9±0,8 (n=23)	6,5±1,0 (n=24)	10,5±1,9* (n=17)
<i>Pr. mirabilis</i>	8,7±0,4 (n=18)	15,2±3,2* (n=18)	—	20,6±4,0* (n=12)	16,8±3,8* (n=22)	16,7±4,4 (n=18)	15,2±3,0* (n=20)	10,9±1,9 (n=23)	12,5±2,3 (n=24)	11,0±1,1 (n=17)

Примечание. 1 — обследование при госпитализации, 2 — на фоне лечения, 3 — при выписке. В скобках — число обследованных. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  по отношению к контролю.

при поступлении, так и при выписке из стационара.

Таким образом, впервые выявленные изменения концентрации противомикробных антител при СД I типа у детей могут быть следствием эндотоксинемии, проявлением адаптационных механизмов, дисбиотических процессов, нарушений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и микроциркуляции, снижения антитоксической функции печени на фоне основного патологического процесса. В пользу данного обстоятельства свидетельствует тот факт, что установленные изменения имели место при различной степени компенсации заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Валенович Л.Н., Яхонтова О.Н. // Казанский мед. ж. — 1971. — № 5. — С. 87—88.
2. Воронин А.А., Тараненко Л.А. и др. // Антибиот. и химиотер.—1999. — Том 44. — № 3. — С. 22—24.
3. Зипкевич О.Д. // Журн. микробиол. — 1999. — № 2.—С. 65—68.
4. Касаткина Э.П., Воронин А.А. и др. // Журн. микробиол.—1996. — № 6. — С. 84—85.

5. Крюкова Е.В., Савченко А.А. и др. // Проблемы эндокринологии.—2000. — Том 46. — № 3. — С.7—9.

6. Пермяков Н.К., Анишневская И.А. и др.// Актуальные проблемы общей и частной патологии. — М., 1993.

7. Старкова Н.Г. Клиническая эндокринология. — М.,1991.

8. Mattsby-Baltzer I., Lindgren K.// Infection. Immunology.— 1991. —Vol. 38 — P. 689—695.

Поступила 04.04.01.

#### CONCENTRATION OF ANTIMICROBIC ANTIBODIES IN CHILDREN WITH DIABETES MELLITUS OF THE 1ST TYPE

*I.M. Filimonova, L.M. Sultanova*

#### S u m m a r y

The state of antibacterial humoral immunity in 121 children with diabetes mellitus of the 1st type is shown using the hard phase immunoenzymic analysis. The increase of the level of antibodies to glycolipid independent of the degree of carbohydrate metabolism is revealed. The analysis of concentration of *E. coli* antibodies showed the changes similar to antibodies to glycolipid. Increase in the levels of glycolipid and *E. coli* antibodies in children with diabetes mellitus of the 1st type is justified by the excess supply of endotoxin from the enteric tract and is the result of its immunogenic properties.

УДК 616.367—002.2—0.53.2—085.244

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИПОСТАБИЛА ПРИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ

*Л.В. Шпренгер*

*Кафедра детских болезней №2 (зав. — проф. В.П. Булатов) Казанского государственного медицинского университета*

Проблема поражений желчевыводящих путей в детском возрасте привлекает особое внимание педиатров ввиду широкой распространенности данной патологии и склонности процесса к рецидивирующему течению. Одним из ведущих звеньев патогенеза заболеваний гепатобилиарной системы является дефицит незаменимых жирных кислот в мембранах клеток, обусловленный активацией их перекисного окисления в условиях истощения функциональных резервов антиоксидантной системы (АОС) [2, 3]. Происходящее при этом повреждение клеточных цитоплазматических мембран диктует необходимость включения в комплексное лечение больных

детей препаратов, содержащих “эссенциальные” фосфолипиды, корригирующих мембранопатологические процессы и нормализующих работу АОС [4, 9].

Целями исследования являлись изучение состояния ферментативного звена АОС сыворотки крови на разных этапах развития билиарной патологии у детей, определение целесообразности и эффективности применения препарата липостабила, содержащего сложные эфиры холинофосфорной кислоты с преобладанием ненасыщенных жирных кислот.

Под нашим наблюдением находились 127 детей в возрасте от 5 до 15 лет с различными формами поражения билиар-