

УДК 616-092 : 612.017.1+616.992.212 : 576.8.097.29-053.2

© Н. В. Римаренко, 2009.

## РІВЕНЬ ЕНДОТОКСИНУ КИШКОВОГО ПОХОДЖЕННЯ В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ДІТЕЙ З БАКТЕРІАЛЬНИМИ АНГІНАМИ І КАНДИДОЗНИМ УРАЖЕННЯМ РОТОГЛОТКИ

**Н. В. Римаренко***Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського.*

### LEVEL OF ENDOTOXIN OF INTESTINAL ORIGIN IN BLOOD SERUM IN HIV-INFECTED CHILDREN WITH BACTERIAL ANGINAS AND CANDIDOUS INJURY OF STOMATOPHARYNX

**N. V. Rymarenko**

#### SUMMARY

Results of determine of a level of endotoxinous gram-negative intestinal flora in blood serum of 26 HIV-infected children with bacterial anginas and candidiasis of stomatopharynx were presented in the work. Development of endotoxemia of intestinal origin is revealed.

### РІВЕНЬ ЕНДОТОКСИНУ КИШКОВОГО ПОХОДЖЕННЯ В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ДІТЕЙ З БАКТЕРІАЛЬНИМИ АНГІНАМИ І КАНДИДОЗНИМ УРАЖЕННЯМ РОТОГЛОТКИ

**Н. В. Римаренко**

#### РЕЗЮМЕ

У роботі представлені результати визначення рівня ендотоксину грамнегативної флори кишечника в сироватці крові 26 ВІЛ-інфікованих дітей, хворих на бактеріальні ангіни і кандидоз ротоглотки. Виявлено розвиток ендотоксинемії кишкового походження.

**Ключові слова:** ендотоксин грамнегативної мікрофлори, ВІЛ-інфекція, бактеріальна ангіна, кандидоз, діти.

Раніше нами було показано, що при бактеріальних ангінах і кандидозному ураженні ротоглотки у ВІЛ-інфікованих дітей, різко збільшується ріст грамнегативних мікроорганізмів на слизовій ротовій порожнині і товстій кишці [1]. Відомо, що ендотоксин, який вивільнюється при руйнуванні грамнегативної флори, здатний проникати з кишечника в системний кровоток, при цьому характер його впливу на організм чітко залежить від дози [2,3]. Присутність у крові малих доз ЕТ (0-1 МЕЕ/мол) вважається фізіологічним, тоді як підвищене проникнення кишкового ЕТ у системний кровоток призводить до розвитку ряду патофізіологічних реакцій, аж до розвитку ДВС і септичного шоку [4]. При розвитку інфекційного захворювання створюються умови для підвищеного проникнення ЕТ з кишечника в системний кровоток за рахунок порушення функції захисних протиінфекційних бар'єрів. Неспроможність захисних бар'єрів виражається в порушенні колонізаційної резистентності нормальної мікрофлори людини (у тому числі і у результаті антибіотикотерапії), порушення кишкового пасажу, мікроциркуляторних порушень у брижових судинах і підвищенні проникності слизової кишечника, порушенні дезінтоксикаційної функції печінки [3]. Для хворих з ВІЛ-інфекцією неспроможність захисних функцій слизових оболонок і шкіри збільшується і наявністю імунodefіциту в результаті прогресії ВІЛ-інфекції.

Метою нашого дослідження стало визначення рівня ЕТ кишкового походження у ВІЛ-інфікованих

дітей при інфекційних ураженнях ротоглотки бактеріальної і грибової етіології.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Під спостереженням перебували 26 хворих у віці від 2 до 8 років (з них 11 хлопчиків і 15 дівчаток), які перебували на лікуванні в КРУ «Дитяча інфекційна клінічна лікарня» м. Сімферополя за період з 2005 по 2008 р. Хворі були розподілені на 2 групи. В 1-у групу ввійшли 11 дітей, які мали III клінічну стадію ВІЛ-інфекції (відповідно до Класифікації ВООЗ, 2006 р.) і помірний ступінь імуносупресії (відповідно до Класифікації CDC 1994 р.). Діти були госпіталізовані із клінічними ознаками локалізованого кандидозного ураження ротоглотки (орофарінгеального кандидозу) і ще не почали отримувати ВААРТ (високоактивну антиретровірусну терапію). В 2-у групу ввійшли 15 дітей з II-III клінічною стадією ВІЛ-інфекції, які на момент надходження не мали імуносупресії, тому що отримували ВААРТ протягом 1-3 років і були госпіталізовані з приводу середньотяжкої форми бактеріальної ангіни.

Матеріалом дослідження служила периферична кров, що забиралася тричі: при надходженні в стаціонар (на висоті клінічних проявів), на 3-ю добу від моменту надходження і перед випискою зі стаціонару. Оскільки у хворих з бактеріальними ангінами збудниками захворювання були грампозитивні мікроорганізми (*Str. pyogenes*, *Str. pneumoniae*, *Str. viridans*, *S. aureus*), а у хворих орофарінгеальним кандидозом

– *Candida albicans*, виявлений у системному кровотоку ЕТ міг бути тільки кишкового (ендогенного) походження.

Групу порівняння склали 25 здорових дітей, у віці від 2 до 6 років.

Визначення кількісного вмісту ендотоксину в сироватці крові хворих.

Дослідження основане на хромогенному аналізі по кінцевій крапці, у якому після змішування ЛАЛ-реактиву EndosafeR Endochrome з випробуванним зразком проводився вимір жовтого фарбування, що розвивається в реакційній суміші (5). Біологічний принцип методу полягає в тому, що ендотоксини грамнегативних бактерій призводить до активації проферменту (каскаду ферментів, що є сериновими протеазами), які містяться в лізаті амебоцитів *limulus* (Лал-Реактив EndosafeR Endochrome). Активний згортаючий фермент розрізає коагулоген, що призводить до помутніння реакційної суміші. У присутності хромогенного субстрату (S-2423) згортаючий фермент

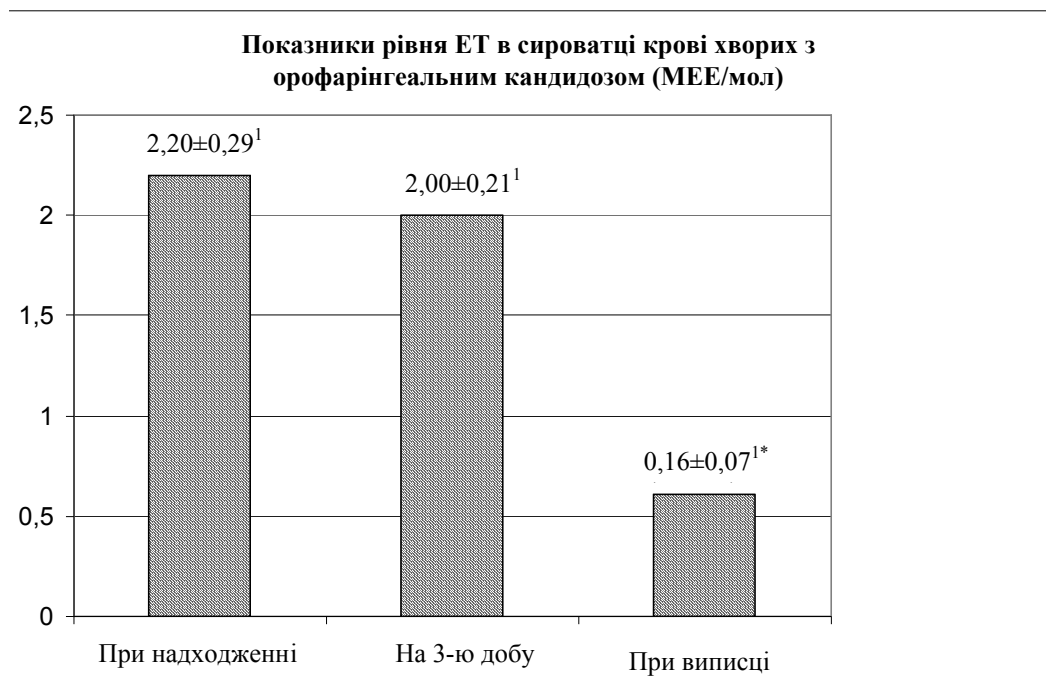
відрізає від субстрату хромофор, р-нітроанілін. Вивільнений р-нітроанілін надає розчину жовте фарбування. За допомогою спектрофотометра, при довжині хвилі 405-410 нм нами вимірялася інтенсивність фарбування, що була прямо пропорційна вмісту ендотоксину в зразку. Концентрацію ендотоксину в зразку визначали за каліброваною кривою.

Для здійснення дослідження нами використовувався ЛАЛ-реактив EndosafeR Endochrome (виробник Charles River Endosafe, a Division of Charles River Laboratories, Inc., США). Контрольний стандарт ендотоксину Endosafe приготовлений з *E.coli* штам O55:B5.

Згідно отриманим нами даним, в 25 здорових дітей із групи порівняння вільний ендотоксин у сироватці крові не визначався.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

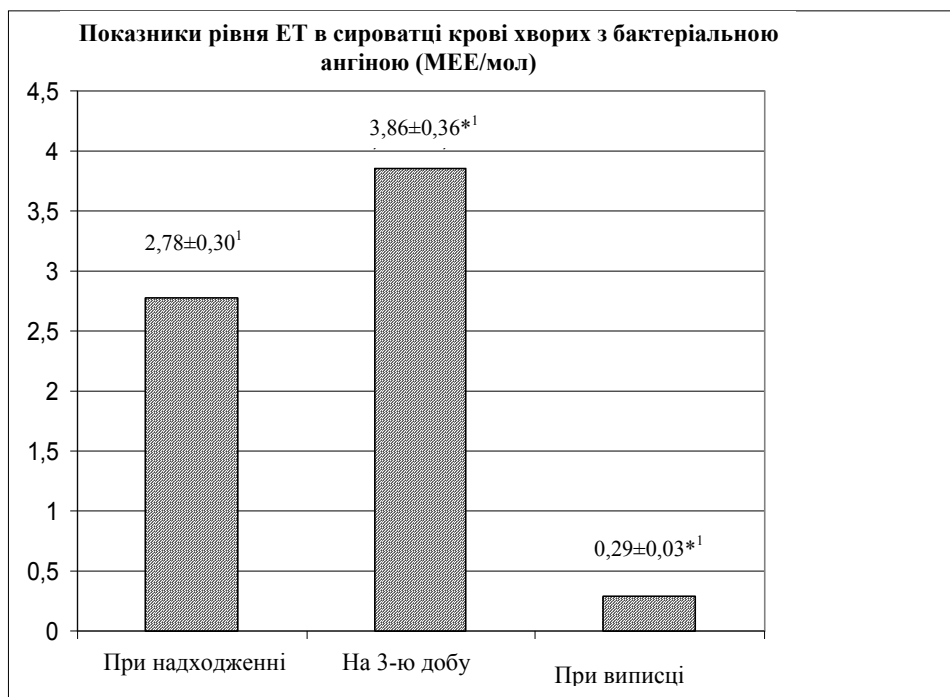
Проведені дослідження показали, що рівень ЕТ у сироватці крові при надходженні в стаціонар був достовірно підвищений у хворих обох груп ( $p < 0,001$ , рис. 1 і 2).



**Рис.1. Показники рівня ЕТ у сироватці крові хворих з орофарінгеальним кандидозом. Примітки: 1. <sup>1</sup> - статистично достовірна різниця, обчислювана в порівнянні з відповідним показником у групі здорових дітей; 2. \* - статистично достовірна різниця, обчислювана в порівнянні з відповідним показником при надходженні.**

Підвищення проникнення ЕТ з кишечника в системний кровоток у хворих з орофарінгеальним кандидозом можна зв'язати як з різкою зміною мікробного пейзажу слизових оболонок і відповідно порушенням колонізаційної резистентності, так і з різким

порушенням харчування в цих хворих, що викликає порушення кишкового пасажу і зміни проникності слизової кишечника. Не відзначено достовірного розходження рівня ЕТ (рис.1) у сироватці крові у хворих 1-ї групи при надходженні і на 3-ю добу перебування



**Рис.2.** Показники рівня ЕТ у сироватці крові хворих з бактеріальною ангіною. Примітки: 1. <sup>1</sup> - статистично достовірна різниця, вирахована в порівнянні з відповідним показником у групі здорових дітей; 2.\* - статистично достовірна різниця, вирахована в порівнянні з відповідним показником при надходженні.

( $p > 0.2$ ). Це ймовірно пов'язане з незначною виразністю інфекційного токсикозу в цієї категорії хворих та обмеженістю клінічно вираженого ураження слизових оболонок.

У той же час, у хворих з бактеріальними ангінами (рис.2) на 3-ю добу перебування в стаціонарі рівень ЕТ у сироватці крові зростав в 1.4 рази в порівнянні з показником при надходженні ( $p < 0.05$ ). Очевидно, це було пов'язане з більше вираженим інфекційним токсикозом у хворих цієї групи, а також застосуванням антибактеріальних препаратів широкого спектра дії, що крім іншого сприяло порушенню захисних властивостей протиінфекційних бар'єрів.

Варто також урахувати і необхідність довічного прийому ВІЛ-інфікованими хворими ВААРТ (високоактивної антиретровірусної терапії). Безсумнівно, що ВААРТ має життєво-важливий, вирішальний позитивний ефект для хворих. Однак як і усі найбільш сучасні та ефективні препарати, ця терапія має значні побічні токсичні ефекти (7). Більшою мірою токсичному впливу піддається печінка, кишечник і система кровотворення, отже, порушується бар'єрна функція слизової кишечника і детоксикаційна функція печінки. Однак, на момент виписки рівень ЕТ не перевищував фізіологічну норму у хворих обох груп, що не дозволило нам вважати ВААРТ одним з факторів значно впливають на розвиток ендотоксинемії.

Таким чином, отримані нами дані свідчать про розвиток ендотоксинемії, пов'язаної з підвищеним

проникненням ЕТ з кишечника в системний кровоток у ВІЛ-інфікованих хворих досліджуваних груп. Цей патофізіологічний процес безумовно небезпечний для цієї категорії хворих, тому що ендотоксинемія в цьому випадку є додатковим токсичним компонентом і в комплексі з основним захворюванням може призводити до декомпенсації систем захисту від інфекції, особливо в умовах імунодефіциту.

#### ВИСНОВКИ.

1. Установлено, що на тлі перебігу бактеріальних ангігін і орофарингеального кандидозу у ВІЛ-інфікованих хворих розвивається ендотоксинемія кишкового походження з підвищенням ЕТ у сироватці крові в 2-3 рази.
2. Розвиток ендотоксинемії кишкового походження у ВІЛ-інфікованих хворих може призводити до декомпенсації систем захисту від інфекції, особливо в умовах імунодефіциту.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Римаренко Н.В. Стан мікробіоценозу ротоглотки і товстої кишки у ВІЛ-інфікованих дітей // Таврический медико-биологический вестн. – 2007. – Т.10, №4. – С. 81-84.
2. Белоглазов В.А. Роль ендотоксина кишечной палочки и лейкоцитов в формировании нарушенной коагуляционного гемостаза у больных стероидозависимой бронхиальной астмой // Проблемы, достижения и перспективы развития медикобиологичес-

ких наук и практического здравоохранения: тр. Крым. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского.-Симферополь, 1997. - Т.133, Ч.1.-С133-138.

3. Исаков Ю.Ф., Белобородова Н.В. Сепсис у детей. – М., 2001. -369 с.

4. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека.- 2003. –Т.29, №4.- С.154-165.

5. Priscilla F. Roslansky. Serum testing using chromogenic and Gel-Clot methods // LALAPDATE. – 1990. – Vol. 8, №4. –Р. 1-4.

6. Хавкин А.И.. Микрофлора пищеварительного тракта. – М.: Фонд социальной педиатрии, 2006. – 416 с.

7. Кристиан Хоффман, Юрген К. Рокстро, Бернд Себастьян Кампс Лечение ВИЧ-инфекции с сайта [www.HIVMedicine.com](http://www.HIVMedicine.com), 564с.