

И.Д. Успенская, Е.И. Шабунина, Е.А. Жукова, М.В. Ерзутова, Л.В. Коркоташвили

Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии, Российская Федерация

## Эндогенная интоксикация и биохимическая протекция у детей при целиакии: оценка состояния и корреляционно-регрессионный анализ

**Цель исследования:** установить особенности параметров эндогенной интоксикации, биохимической защиты и определить их взаимосвязь у детей с целиакией. **Пациенты и методы:** обследован 81 ребенок в возрасте от 1 до 16 лет с целиакией в остром периоде и ремиссии. В эритроцитах, сыворотке крови и моче определяли вещества низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ), олигопептиды (ОП); в эритроцитах — величину механического гемолиза эритроцитов (МГ), содержание малонового диальдегида (МДА), активность глутатионредуктазы (ГР) и супероксиддисмутазы (СОД); в сыворотке крови — уровень церулоплазмينا (ЦП), активность алкогольдегидрогеназы (АДГ); в эритроцитах и сыворотке крови — активность глутатионтрансферазы (ГТ); рассчитывали индекс интоксикации (ИИ). **Результаты:** у детей с целиакией в острый период и ремиссию уровни ВНСММ, ОП, ИИ в крови статистически значимо повышены, а ВНСММ в моче снижены. В оба периода увеличена активность ГТ ( $p < 0,001$ ), снижена активность ГР ( $p < 0,001$ ) и СОД ( $p < 0,01$ ). Имеются корреляции между показателями МДА и ИИ ( $r = 0,67$ ;  $p = 0,006$ ), ВНСММ эритроцитов и СОД ( $r = -0,61$ ;  $p = 0,015$ ), ВНСММ эритроцитов и АДГ ( $r = 0,62$ ;  $p = 0,006$ ), ГТ и ОП мочи ( $r = -0,31$ ;  $p = 0,026$ ), ГТ и МДА ( $r = 0,68$ ;  $p = 0,000$ ), ГТ и МГ ( $r = -0,46$ ;  $p = 0,004$ ), МДА и ЦП ( $r = 0,57$ ;  $p = 0,002$ ), что позволило построить модели зависимости параметров друг относительно друга. **Выводы:** при целиакии имеет место эндогенная интоксикация. Важным фактором патогенеза болезни являются изменения первой и второй фазы биотрансформации, антиоксидантной защиты, оказывающие влияние на формирование эндогенной интоксикации, что необходимо учитывать при назначении лечения. **Ключевые слова:** целиакия, эндогенная интоксикация, биотрансформация, антиоксидантная защита, регрессионные модели. (Вестник РАМН. 2014; 7–8: 93–99)

93

### Введение

Целиакия (глютенная энтеропатия) представляет собой хроническую иммунологически детерминированную форму энтеропатии, которая затрагивает тонкую кишку у генетически предрасположенных детей и взрослых [1].

Данные эпидемиологических исследований последних лет свидетельствуют о значительной распространенности этой патологии среди населения: от 0,3 до 2,5% [2].

Наибольший риск возникновения заболевания связан с наличием генетических маркеров HLA-DQ2- и HLA-DQ8-молекул. Развитие целиакии инициируется

I.D. Uspenskaya, E.I. Shabunina, E.A. Zhukova, M.V. Erzutova, L.V. Korkotashvili

Nizhny Novgorod Research Institute of Children Gastroenterology, Russian Federation

## Endogenous Intoxication and Biochemical Protection in Children with Celiac Disease: State Assessment and Correlation-Regression Analysis

**Aim:** The purpose of the study was to determine the characteristics of endogenous intoxication parameters, biochemical protection and reveal their interaction in children with celiac disease. **Materials and methods:** 81 children aged from 1 to 16 years with celiac disease were examined in acute and remission periods. In erythrocytes, blood serum and urine we determined low and moderate molecular weight substances (LMMWS), oligopeptides (OP); in erythrocytes — the value of erythrocyte mechanical hemolysis (MH), malondialdehyde (MDA) content, the activity of glutathione reductase (GR) and superoxide dismutase (SOD); in blood serum — ceruloplasmin (CP) level, alcohol dehydrogenase (ADH) activity; in erythrocytes and blood serum — glutathione transferase (GT), and calculated intoxication index (II). **Results:** In children with celiac disease in acute and remission periods LMMWS, OP, II levels in blood were statistically significantly high, while LMMWS level in urine was low. In both periods MH activity was high ( $p < 0.001$ ), and GSR ( $p < 0.001$ ) and SOD ( $p < 0.01$ ) levels were low. We revealed the correlation between MDA and II ( $r = 0.67$ ;  $p = 0.006$ ), erythrocyte LMMWS and SOD ( $r = -0.61$ ;  $p = 0.015$ ), erythrocyte LMMWS and ADH ( $r = 0.62$ ;  $p = 0.006$ ), between GT and OP in urine ( $r = -0.31$ ;  $p = 0.026$ ), GT and MDA ( $r = 0.68$ ;  $p = 0.000$ ), GT and MH ( $r = -0.46$ ;  $p = 0.004$ ), between MDA and CP ( $r = 0.57$ ;  $p = 0.002$ ) that made it possible to develop the models of dependence of the parameters in relation to each other. **Conclusion:** In celiac disease there is endogenous intoxication. The changes of the first and the second phases of biotransformation, antioxidant protection is an essential factor of the disease pathogenesis, since they have an effect on endogenous intoxication formation that should be taken into consideration in therapy.

**Key words:** celiac disease, endogenous intoxication, biotransformation, antioxidant protection, regression models.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 7–8: 93–99)

приемом зерновых, таких как пшеница, ячмень, рожь, содержащих глютен и другие богатые проламинами белки. Определенные последовательности глютенных пептидов, обладая цитотоксической, иммуномодулирующей активностью, вызывают в слизистой оболочке тонкой кишки иммуновоспалительный процесс, что в итоге приводит к повреждению эпителия, разрушению коллагеновых структур, деструкции ворсинок [3].

В настоящее время в патогенезе многих хронических соматических заболеваний воспалительно-дегенеративного характера особую актуальность приобретают вопросы, связанные с напряжением работы функциональной гомеостатической системы детоксикации, истощением ее резервов и формированием эндогенной интоксикации (ЭИ) [4, 5].

Детоксикация может происходить различными путями, в т.ч. посредством биотрансформации, которая является основой биохимических механизмов адаптации и компенсации [6].

Процессы биотрансформации осуществляются в две фазы. В первой фазе преимущественно липофильные токсические вещества в результате реакций окисления, восстановления или гидролиза превращаются в гидрофильные соединения, которые могут быть как менее, так и более токсичными по сравнению с исходным веществом. В связи с этим чрезвычайно важна роль второй фазы биотрансформации, где образуются нетоксичные водорастворимые продукты конъюгации, легко выделяющиеся из организма. Важным компонентом биохимических механизмов детоксикации является антиоксидантная защита, поддерживающая оптимальное функционирование процессов биотрансформации экзо- и эндогенных ксенобиотиков [7].

Вопросы понимания механизмов развития патологического процесса, взаимосвязи нарушений баланса биохимической системы детоксикации и эндотоксикоз, а также выраженности метаболических нарушений с клиническими особенностями целиакии остаются открытыми.

**Цель исследования:** установить особенности параметров эндогенной интоксикации, биохимической защиты и определить их взаимосвязь у детей с целиакией.

## Пациенты и методы

### Участники исследования

Обследован 81 ребенок (26 мальчиков и 55 девочек) в возрасте от 1 года до 16 лет (средний возраст  $9,17 \pm 0,52$  года) с диагнозом «Целиакия», установленным на основании пересмотренных критериев Европейского общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов (ESPGHAN) [8]. С учетом периода заболевания больные были разделены на 2 группы: группа острого периода, или манифестации ( $n = 25$ ), и группа ремиссии целиакии ( $n = 56$ ). Исследование соответствовало требованиям локального Этического комитета, разработанным в соответствии с Хельсинскими декларациями. На участие в нем от каждого пациента и его родителей было получено подписанное информированное согласие. В группу сравнения вошли 60 условно здоровых детей. Пациенты группы с целиакией и группы сравнения были сопоставимы по полу и возрасту.

### Методы исследования

Всем больным проводилось стандартное общеклиническое и клинико-биохимическое лабораторное обследова-

ние. Помимо этого определяли выраженность ЭИ по концентрации в эритроцитах (эр.), сыворотке крови (сыв.) и моче веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) методом М.Я. Малаховой и олигопептидов (ОП) в этих же биосредах по Лоури, а также по величине механического гемолиза (МГ) эритроцитов по методу В.В. Банковой, Ю.А. Юркова [9], содержанию малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах методом М. Ishihara [10]. Для оценки накопления в крови (кр.) продуктов ЭИ рассчитывали индекс интоксикации (ИИ) крови:

$$\text{ИИ кр.} = (\text{ВНСММ сыв.} \times \text{ОП сыв.}) + (\text{ВНСММ эр.} \times \text{ОП эр.})$$

Состояние биотрансформации изучали по активности в сыворотке крови НАДН и НАД-зависимой алкогольдегидрогеназы (АДГ) методом А. Shimasue, М. Murakami, Т. Tsubokura; глутатионтрансферазы (ГТ) в эритроцитах и сыворотке крови спектрофотометрически [9], глутатионредуктазы эритроцитов (ГР) — методом R.E. Pinto, W. Bartley [11]. Исследовали антиоксиданты: активность супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов методом Р. Kakkar [12] и содержание церулоплазмينا (ЦП) в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом.

### Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных выполнена при помощи программной среды для статистических вычислений R, версия 3.0. Рассчитывали среднюю арифметическую величину ( $M$ ) и ошибку средней ( $m$ ). Для сравнения средних использовали двухвыборочный  $t$ -критерий Стьюдента для несвязанных выборок. Для установления взаимосвязи и измерения тесноты связи между количественными признаками применяли корреляционный анализ с вычислением парных коэффициентов линейной корреляции Спирмена ( $r$ ). Для определения взаимосвязи между категориальными и количественными параметрами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Оценку величины и клинической значимости эффекта взаимосвязи между количественными признаками осуществляли с помощью однофакторного линейного регрессионного анализа и построения уравнения линейной регрессии:

$$Y = a + bX,$$

где  $Y$  — результирующий признак (зависимая переменная), а  $X$  — факторный признак (независимая переменная). Величины коэффициентов уравнения регрессии  $a$  и  $b$  находили методом наименьших квадратов.

Оценку адекватности уравнения регрессии производили на основе значимости коэффициентов регрессии и  $F$ -критерия Фишера.

Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Результаты исследования показателей ЭИ в зависимости от периода заболевания представлены в табл. 1. Установлено, что уровень ВНСММ эр. был повышен при глютенной энтеропатии в 1,1–1,2 раза с более значительной концентрацией в острый период болезни, чем в ремиссии. Их содержание в сыворотке относитель-

Таблица 1. Показатели эндогенной интоксикации у детей, больных целиакией, в зависимости от периода заболевания (M+m)

Показатели	Условно здоровые (n =60)	Целиакия		p			
		1	Острый период (n =25)	Ремиссия (n =56)	1–2	1–3	2–3
			2	3			
ВНСММ эр., усл. ед. n	20,85±0,31 60	25,33±0,78 25	22,15±0,52 56	<0,001	<0,05	<0,01	
ВНСММ сыв., усл. ед. n	7,13±0,14 60	12,77±0,68 25	9,08±0,44 56	<0,001	<0,001	<0,001	
ВНСММ мочи, усл. ед. n	27,01±0,75 60	15,44±1,06 25	22,80±1,10 56	<0,001	<0,01	<0,001	
ОП эр., г/л n	0,19±0,020 20	0,36±0,032 25	0,28±0,018 54	<0,001	<0,01	<0,05	
ОП сыв., г/л n	0,11±0,010 20	0,23±0,018 25	0,18±0,11 54	<0,001	<0,001	<0,01	
ОП мочи, г/л n	1,35±0,08 20	1,30±0,09 25	1,48±0,09 54	-	-	-	
ИИ кр. n	4,94±0,20 20	12,10±1,04 25	7,90±0,54 54	<0,001	<0,001	<0,001	
МДА эр., мкмоль/л n	30,80±2,90 20	32,72±1,98 27	34,19±1,34 56	-	-	-	
МГ эр., % n	1,27±0,10 20	2,51±0,17 17	2,21±0,13 49	<0,001	<0,001	-	

Примечание. n — число обследованных. Здесь и далее (табл. 3, 4): ВНСММ эр. — вещества низкой и средней молекулярной массы эритроцитов; ВНСММ сыв. — вещества низкой и средней молекулярной массы сыворотки; ОП эр. — олигопептиды эритроцитов; ОП сыв. — олигопептиды сыворотки; ИИ кр. — индекс интоксикации крови; МДА эр. — малоновый диальдегид эритроцитов; МГ эр. — механический гемолиз эритроцитов; p — уровень статистической значимости различий между группами.

но здоровых детей также повышалось во все периоды целиакии, причем накопление ВНСММ в сыворотке было более выражено, чем в эритроцитах. У пациентов с целиакией установлено снижение экскреции ВНСММ с мочой, особенно заметное в острый период болезни, когда их уровень падал в 1,7 раза по сравнению с нормой. Установлена отчетливая тенденция к более низким цифрам ВНСММ мочи у тяжелых больных по сравнению с детьми в состоянии средней степени тяжести. При переходе к ремиссии уровень ВНСММ мочи превышал значения острого периода, но был ниже нормы.

Выявлено значительное накопление ОП эр. во все периоды целиакии. Наибольший подъем (в 1,9 раза) отмечался в острый период, относительно которого в ремиссии происходило снижение уровня накопления эритроцитарных ОП. Изменения в содержании ОП сыв. были во многом идентичны динамике эритроцитарных ОП. Уровень ОП в моче в оба периода мало отличался от контрольного.

Особенности изменений индекса интоксикации, являющегося интегральным показателем ЭИ крови, свидетельствовали о его повышении относительно показателя у условно здоровых детей с прямой зависимостью от периода заболевания. Так, в остром периоде величина ИИ кр. возрастала в 2,5 раза от нормы. В ремиссии целиакии ИИ кр. был в 1,5 раза меньше значения предыдущего периода.

Методом ANOVA установлена связь между приверженностью больных к безглютеновой диете и уровнем ОП эр., а также ИИ кр. По мере отхода от диеты значения данных показателей в крови пациентов повышались (p =0,014; p =0,022).

Отмечено, что средние значения МДА эр. в оба периода заболевания мало отличались от контрольных. Вместе с тем индивидуальный анализ показал, что 70% детей в острый период имели разнонаправленные изменения МДА эр.: у 40% имело место повышение, а у 30% — снижение.

Кроме того, при целиакии были свойственны мембранно-дестабилизирующие проявления, которые выражались в повышении показателя механического гемолиза эритроцитов.

Результаты исследования показателей метаболической защиты у детей с глютеновой энтеропатией представлены в табл. 2.

Установлено, что острый период целиакии характеризовался отчетливой индукцией НАДН-АДГ сыв., активность которой превышала норму в 2,5 раза. При ремиссии ее уровень достоверно снижался.

Динамические наблюдения также показали существенные сдвиги в системе глутатионзависимых ферментов при целиакии у детей. Острый период сопровождался значительной индукцией ГТ эр. с возрастанием ее активности в 1,5 раза от нормы и восстановлением в ремиссию. Активность ГТ сыв. повышалась независимо от периода заболевания, достигая двух норм. Одновременно с индукцией ГТ активность другого фермента редокс-системы глутатиона — ГР эр. — снижалась, наиболее резко — при манифестации целиакии. Относительно острого периода уровень ГР эр. в ремиссии возрастал, но оставался значительно ниже контрольного.

Выраженное и стойкое падение энзимной активности относительно нормы было характерно для СОД эр.: в 1,8 раза в остром периоде и в 1,5 — при ремиссии. Содержание другого антиоксиданта — церулоплазмينا сыворотки — не выходило за пределы контрольных значений, однако и в этих границах имелись существенные различия его концентрации с более низкими значениями в остром периоде по сравнению с ремиссией.

В ходе корреляционного анализа между параметрами ЭИ и общеклиническими данными у больных целиакией установлены следующие выраженные отрицательные взаимосвязи: ВНСММ сыв. и гемоглоби (в остром периоде r = - 0,56, p =0,013; в ремиссии r = -0,53, p =0,000); ИИ кр. и содержание альбумина в сыворотке в ремиссии (r = -0,53; p =0,001).

В остром периоде заболевания положительные корреляции заметной силы были выявлены между ВНСММ сыв., с одной стороны, и ГТ сыв. ( $r = 0,55$ ;  $p = 0,027$ ), ГР эр. ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,023$ ) — с другой, а также между МГ эр. и ГТ сыв. ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,029$ ). Кроме того, четкая взаимосвязь была обнаружена между МДА эр. и ИИ кр. ( $r = 0,67$ ;  $p = 0,006$ ).

Результаты расчетов линейных коэффициентов корреляции между показателями ЭИ и биохимической защиты в ремиссии глютеновой энтеропатии приведены в табл. 3. Из представленных данных видно, что 6 коэффициентов корреляционной матрицы имеют уровень статистической значимости  $p < 0,05$ . Прямая заметная связь была установлена между ВНСММ эр. и НАД-АДГ сыв., а также между МДА эр., с одной стороны, и ГТ сыв. и ЦП сыв. — с другой. Обратная связь заметной силы имела место между ВНСММ эр. и СОД эр., умеренной силы — между МГ эр. и ГТ эр., меж-

ду ОП мочи и ГТ сыв. Взаимосвязи между ВНСММ сыв., ВНСММ мочи, ОП эр., ОП сыв., ИИ кр. и показателями биотрансформации, антиоксидантной защиты обнаружены не были.

Полученные взаимодействия между значениями показателей ЭИ и метаболической защиты, общеклиническими данными определили возможность построения линейных регрессионных моделей, демонстрирующих тесную зависимость указанных параметров друг относительно друга. Результаты вычисления коэффициентов регрессии, подтвердивших адекватность каждой регрессионной модели, представлены в табл. 4.

Исходя из полученных данных, построена регрессионная модель зависимости концентрации ВНСММ эр. от активности НАД-АДГ сыв. при ремиссии целиакии, которая имеет следующий вид:

$$\text{ВНСММ эр.} = 17,61 + 0,57 \times \text{НАД-АДГ сыв.}$$

Таблица 2. Показатели биохимической защиты у детей, больных целиакией, в зависимости от периода заболевания (М+m)

Показатели	Условно здоровые (n = 60)	Целиакия		p		
		Острый период (n = 25)	Ремиссия (n = 56)	1–2	1–3	2–3
	1	2	3			
НАД-АДГ сыв., нмоль/мин × л n	9,14±0,48 20	11,73±2,28 10	8,21±0,75 25	-	-	-
НАДН-АДГ сыв., нмоль/мин × л n	22,05±2,07 20	56,35±13,20 10	25,11±1,75 25	<0,05	-	<0,05
ГТ эр., мкмоль/мин × г Нб n	1,32±0,12 20	1,96±0,11 26	1,45±0,09 56	<0,001	-	<0,001
ГТ сыв., мкмоль/мин × г белка n	2,42±0,33 20	5,44±0,24 26	5,06±0,21 56	<0,001	<0,001	-
ГР эр., мкмоль/мин × г Нб n	2,85±0,11 20	1,97±0,09 22	2,33±0,05 53	<0,001	<0,001	<0,001
СОД эр., ед/мин × г Нб n	437±49 20	247,59±21,29 10	301,11±27,49 15	<0,01	<0,05	-
ЦП сыв., г/л n	0,32±0,008 60	0,29±0,012 10	0,33±0,005 30	-	-	<0,01

Примечание. n — число обследованных. Здесь и далее (табл. 3, 4): НАД-АДГ сыв. — НАД-зависимая алкогольдегидрогеназа сыворотки; НАДН-АДГ сыв. — НАДН-зависимая алкогольдегидрогеназа сыворотки; ГТ эр. — глутатионтрансфераза эритроцитов; ГТ сыв. — глутатионтрансфераза сыворотки; ГР эр. — глутатионредуктаза эритроцитов; СОД эр. — супероксиддисмутаза эритроцитов; ЦП сыв. — церулоплазмин сыворотки; p — уровень статистической значимости различий между группами.

Таблица 3. Коэффициенты парных корреляций Пирсона между показателями эндогенной интоксикации и биохимической защиты в периоде ремиссии целиакии

Показатель	НАД-АДГ сыв.	НАДН-АДГ сыв.	ГТ эр.	ГТ сыв.	ГР эр.	СОД эр.	ЦП сыв.
ВНСММ эр.	<b>0,62</b> $p = 0,006$	0,16 $p = 0,491$	-0,08 $p = 0,576$	0,10 $p = 0,489$	0,14 $p = 0,348$	<b>-0,61</b> $p = 0,015$	0,05 $p = 0,797$
ВНСММ сыв.	-0,09 $p = 0,712$	0,19 $p = 0,411$	-0,13 $p = 0,396$	0,10 $p = 0,471$	0,20 $p = 0,179$	-0,24 $p = 0,387$	0,01 $p = 0,950$
ВНСММ мочи	0,40 $p = 0,051$	0,14 $p = 0,56$	-0,10 $p = 0,493$	-0,09 $p = 0,519$	0,03 $p = 0,833$	-0,47 $p = 0,076$	0,08 $p = 0,675$
ОП эр.	0,06 $p = 0,787$	-0,05 $p = 0,818$	0,16 $p = 0,262$	-0,01 $p = 0,936$	0,09 $p = 0,566$	-0,39 $p = 0,147$	-0,16 $p = 0,426$
ОП сыв.	0,06 $p = 0,805$	0,13 $p = 0,568$	-0,06 $p = 0,705$	-0,10 $p = 0,471$	0,27 $p = 0,063$	0,02 $p = 0,946$	-0,22 $p = 0,278$
ОП мочи	0,007 $p = 0,972$	0,34 $p = 0,129$	-0,13 $p = 0,378$	<b>-0,31</b> $p = 0,026$	0,21 $p = 0,161$	-0,40 $p = 0,138$	-0,08 $p = 0,706$
ИИ кр.	0,13 $p = 0,575$	-0,01 $p = 0,978$	0,07 $p = 0,654$	0,11 $p = 0,418$	0,19 $p = 0,197$	-0,49 $p = 0,060$	-0,13 $p = 0,531$
МДА эр.	-0,12 $p = 0,61$	-0,01 $p = 0,965$	0,15 $p = 0,268$	<b>0,68</b> $p = 0,000$	0,03 $p = 0,848$	-0,06 $p = 0,837$	<b>0,57</b> $p = 0,002$
МГ эр.	-0,20 $p = 0,433$	-0,20 $p = 0,420$	<b>-0,46</b> $p = 0,004$	0,12 $p = 0,424$	-0,12 $p = 0,430$	-0,01 $p = 0,981$	-0,12 $p = 0,608$

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значения коэффициентов корреляции с уровнем статистической значимости  $p < 0,05$ .

**Таблица 4.** Коэффициенты регрессионных уравнений, характеризующих зависимость между показателями эндогенной интоксикации и биохимической защиты в периоде ремиссии целиакии

Показатели		Коэффициент а		Коэффициент b	
Y	X	Значение	p	Значение	p
ВНСММ эр.	НАД-АДГ сыв.	17,61	0,000	0,57	0,006
ВНСММ эр.	СОД эр.	29,77	0,000	-0,02	0,016
ЦП сыв.	МДА эр.	0,27	0,000	0,002	0,002
ЦП сыв.	ГТ сыв.	0,27	0,000	0,01	0,001
МГ эр.	ГТ эр.	3,26	0,000	-0,74	0,039
ГТ сыв.	ОП мочи	6,11	0,000	-0,77	0,027

*Примечание.* Y — результирующий признак (зависимая переменная), X — факторный признак (независимая переменная); p — уровень статистической значимости коэффициентов парной регрессионной модели.

Адекватность связи данных показателей в уравнении линейной регрессии также была проверена при помощи F-критерия Фишера, который подтвердил высокое качество обнаруженной закономерности ( $F = 10,2$ ;  $p = 0,0056$ ), а также засвидетельствовал, что наблюдаемая взаимосвязь между зависимой и независимой переменной неслучайна и является реальным фактом. Это позволяет использовать данную регрессионную модель для прогнозирования значений ВНСММ эр. при различных концентрациях НАД-АДГ сыв. и показывает, что у пациентов данной группы содержание ВНСММ эр. напрямую зависит от увеличения активности НАД-АДГ сыв.

Получена модель, выражающая зависимость содержания ВНСММ эр. от активности фермента СОД в эритроцитах:

$$\text{ВНСММ эр.} = 29,44 - 0,02 \times \text{СОД эр.} \quad (F = 7,7; p = 0,0157).$$

Все коэффициенты регрессии значимы, модель по F-критерию Фишера адекватна, что подтверждает ее высокую прогностическую точность, а также свидетельствует о снижении ВНСММ эр. под влиянием повышения активности СОД эр.

Соотношение между концентрацией ЦП в сыворотке крови и малоновым диальдегидом эритроцитов с достаточной степенью точности и адекватности аппроксимировалось моделью простой линейной регрессии:

$$\text{ЦП сыв.} = 0,27 + 0,002 \times \text{МДА эр.} \quad (F = 11,8; p = 0,0022).$$

Исходя из данной модели, можно сделать вывод, что при повышении содержания МДА эр. у больных целиакией возрастает уровень ЦП сыв.

Прогностическая модель на основе механического гемолиза эритроцитов и глутатионтрансферазы эритроцитов была представлена следующим уравнением:

$$\text{МГ эр.} = 3,26 - 0,74 \times \text{ГТ эр.} \quad (F = 9,6; p = 0,0038).$$

Применение регрессионной модели позволило предположить, что повышение активности ГТ эр. влияет на снижение показателя МГ эритроцитов.

Показано, что при целиакии активность ГТ сыворотки зависит от уровня олигопептидов мочи, что подтверждается уравнением линейной регрессии:

$$\text{ГТ сыв.} = 6,11 - 0,77 \times \text{ОП мочи} \quad (F = 5,2; p = 0,0268).$$

Также в ходе регрессионного анализа были построены математические модели зависимости концентрации

гемоглобина в г/л от содержания ВНСММ сыв. в остром периоде целиакии:

$$\text{Hb} = 133,62 - 2,77 \times \text{ВНСММ сыв.} \quad (F = 7,8; p = 0,0127);$$

в периоде и ремиссии:

$$\text{Hb} = 140,24 - 1,97 \times \text{ВНСММ сыв.} \quad (F = 15,37; p = 0,0003);$$

а также зависимость % содержания альбумина сыворотки от значения индекса интоксикации крови:

$$\text{Альбумин сыв.} = 65,06 - 0,60 \times \text{ИИ кр.} \quad (F = 13,2; p = 0,0009).$$

Установлено снижение концентрации гемоглобина у пациентов по мере увеличения ВНСММ сыв. и уменьшение альбуминовой фракции в сыворотке при повышении ИИ кр. При манифестации заболевания предложена регрессионная модель зависимости повышения концентрации МДА эр. от значения ИИ кр.:

$$\text{МДА эр.} = 15,23 + 1,43 \times \text{ИИ кр.} \quad (F = 10,37; p = 0,0067).$$

### Обсуждение

Результаты настоящего исследования продемонстрировали значительные сдвиги в содержании биохимических субстратов ЭИ в различных биологических средах у больных целиакией. Развитие хронической ЭИ было максимально выражено в острый период заболевания, не нормализовалось в ремиссию и сопровождалось значительным накоплением ее субстратов в крови при снижении их выведения почками. Факт накопления ВНСММ и ОП в крови отмечен другими авторами у детей при патологии печени, воспалительных заболеваниях кишечника, однако в отличие от целиакии данной категории больных свойственно повышение экскреции указанных субстратов с мочой [13, 14]. Это свидетельствует о различных путях формирования ЭИ при поражении тех или иных органов пищеварения. Ее показатели при целиакии сопряжены с периодом, степенью тяжести, строгостью соблюдения безглютеновой диеты, что, как мы полагаем, напрямую связано с выраженностью иммуновоспалительного процесса в слизистой оболочке тонкой кишки [15].

В нашей работе установлено, что спектр отрицательных эффектов субстратов ЭИ на течение целиакии включал депрессию гемоглобинообразования и угнетение синтеза альбумина, что снижает детоксикационный потенциал организма и еще более затрудняет выведение эндотоксинов из организма. Кроме того, показано,

что повышение интегрального показателя ЭИ крови сопровождалось увеличением уровня МДА эр., что, с нашей точки зрения, отражает влияние интоксикации на усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активация липидной перекисидации рассматривается в настоящее время как один из основных мембраноповреждающих факторов, лежащих в основе полиорганной недостаточности [7]. При манифестации целиакии на клеточном уровне отмечались как активация, так и замедление ПОЛ, что может указывать на истощение субстратов окисления на фоне тяжелого хронического патологического процесса. Изменения процессов ПОЛ, развитие ЭИ на всех этапах целиакии сопровождаются дестабилизацией клеточных мембран, о чем свидетельствовало увеличение показателя МГ эр.

Обнаружено, что при целиакии изменения первой фазы биотрансформации в виде выраженной индукции НАДН-зависимой фракции алкогольдегидрогеназы сыворотки, наиболее ярко проявляющиеся в период манифестации, косвенно отражают усиление образования эндогенного этанола, который обладает многочисленными токсическими эффектами, оказывая отрицательное влияние на соматический статус больных. Наши данные согласуются с исследованием активности данного фермента у детей при других заболеваниях органов пищеварения [16, 17]. Корреляционно-регрессионный анализ позволил построить модель влияния активности НАД-АДГ сыв. на уровень ВНСММ эр. в ремиссии целиакии, что дает возможность говорить об усилении ЭИ в условиях индукции немикросомального окисления первой фазы биотрансформации и отнести этот момент к неблагоприятному фактору течения болезни.

Исследование второй фазы биотрансформации позволило зарегистрировать дисбаланс в редокс-системе глутатиона, характеризовавшийся статистически значимым ростом активности ГТ эр., сыв. на фоне падения уровня ГР эр., который был сопряжен с периодом и степенью тяжести заболевания. Среди ферментов конъюгации ГТ обладает наиболее разнообразными функциями. Можно полагать, что активация ГТ эр. является компенсаторной, направленной в первую очередь на обезвреживание субстратов ЭИ, особенно значительных в острый период заболевания. С другой стороны, повышение активности ГТ обеспечивает защиту клеток организма от оксидативного стресса, поскольку данный фермент конъюгирует с глутатионом главные и наиболее токсичные продукты перекисного окисления липидов [18]. Учитывая повышение ГТ на фоне ГР, мы считаем, что при целиакии имеет место напряженность детоксицирующих процессов в редокс-системе глутатиона, связанная с преобладанием реакций, использующих восстановленный глутатион над реакциями его синтеза.

Построенная математическая модель убедительно продемонстрировала, что повышение мочевого экскреции ОП способствует снижению высокой активности ГТ сыв., что, по-видимому, связано с падением нагрузки на систему биотрансформации в этих условиях. Выявлено, что активность ГТ эр. обладает мембраностабилизирующим действием, поскольку влияет на снижение повышенных значений МГ эр.

Показано, что уровень в крови ферментов детоксикации активных форм кислорода (СОД, ЦП) определялся периодом целиакии и наиболее существенно изменялся в период манифестации. Активность СОД — энзима, контролирующего ПОЛ, — была резко снижена. При помощи регрессионной модели обнаружено влияние низкой активности СОД эр. на ВНСММ эр., что демонстрирует сохранение высокого уровня ЭИ в условиях низкого антиоксидантного ресурса.

Известно, что ЦП выполняет роль «чистильщика» свободных радикалов, в связи с чем повышение его содержания в сыворотке крови в ремиссию относительно острого периода при сохраняющейся низкой активности СОД эр. можно рассматривать как фактор адаптации за счет индукции внеклеточных механизмов антиоксидантной защиты. Путем математического моделирования определено, что содержание ЦП сыв. повышается при увеличении параметра МДА эр., что мы рассматриваем как компенсаторное возрастание уровня антиоксидантной защиты в ответ на продукцию перекисного компонента ЭИ.

Наши результаты, касающиеся ПОЛ и антиоксидантного статуса детей с целиакией, во многом согласуются с работой V. Stojiljkovic и соавт. [19], в которой сообщалось о повышении содержания в крови больных гидроперекисей липидов, снижении содержания глутатиона и активности ГР. Однако указанные авторы наблюдали повышение активности СОД в острый период заболевания.

## Заключение

Установлено, что целиакия протекает с формированием ЭИ, которой свойственно накопление ВНСММ и ОП в эритроцитах и сыворотке крови, увеличение интегративного индекса токсемии со снижением почечной экскреции ее субстратов. Выраженность ЭИ тесно сопряжена с периодом, степенью тяжести заболевания и приверженностью к соблюдению безглютеновой диеты. Нарушения биохимической защиты являются важным фактором в патогенезе целиакии и определяются изменениями первой и второй фазы биотрансформации (индукция алкогольдегидрогеназы, дисбаланс в редокс-системе глутатиона), антиоксидантной протекции, процессов ПОЛ, стабильности клеточных мембран, что коррелирует с клиническими особенностями болезни и влияет на формирование ЭИ. Применение математического моделирования биохимических процессов позволит углубить представления о механизмах, участвующих в развитии целиакии, а также совершенствовать терапию на базе оптимизации процессов биотрансформации, антиоксидантной защиты, стабилизации клеточных мембран, купирования ЭИ.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, который необходимо обнародовать.

## ЛИТЕРАТУРА

- Husby S., Koletzko S., Korponay-Szab I.R., Mearin M.L., Phillips A., Shamir R., Troncone R., Giersiepen K., Branski D., Catassi C., Lelegman M., Maki M. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 1: 136–160.

2. Lionetti E., Catassi C. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *Int. Rev. Immunol.* 2011; 4: 219–231.
3. Gujral N. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J. of Gastroenterol.* 2012; 42: 6036–6059.
4. Успенская И.Д. Эндогенная интоксикация и состояние биохимической защиты у детей с муковисцидозом. *Детская больница.* 2009; 2: 18–23.
5. Келина Н.Ю., Безручко Н.В., Рубцов Г.К. Биохимические проявления эндотоксикоза: методические аспекты изучения и оценки, прогностическая значимость (аналитический обзор). *Вестн. Тюменского гос. ун-та.* 2012; 6: 143–147.
6. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты. *Вестник РАМН.* 1995; 3: 9–13.
7. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах. *Соросовский образоват. журн.* 2000; 12: 13–19.
8. Walker-Smith J.A., Guandalini S., Schmitz J., Shmerling D.H., Visakorpi J.K. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch. Dis. Child.* 1990; 8: 909–911.
9. Диагностика и биокоррекция нарушений антиинфекционного гомеостаза в системе «мать-дитя». Книга для практического врача. Под ред. Е.И. Ефимова. *Н. Новгород: НГМА.* 2004. 378 с.
10. Ishihara M. Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and of patients with toxemia of pregnancy. *Clin. Chim. Acta.* 1978; 1–2: 1–9.
11. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem. J.* 1969; 1: 109–115.
12. Kakkar P., Das B., Viswanathan P.N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. *Indian J. Biochem. Biophys.* 1984; 2: 130–132.
13. Садовникова И.В. Клинические проявления эндогенной интоксикации и механизмы метаболической защиты организма при хронических гепатитах у детей. *Совр. технол. в медицине.* 2011; 3: 168–170.
14. Федорова О.В., Федулова Э.Н., Тутина О.А., Коркоташвили Л.В. Эндогенная интоксикация при воспалительных заболеваниях кишечника у детей: обоснование эфферентной терапии. *Совр. технол. в медицине.* 2011; 3: 94–97.
15. Uspenskaya I.D., Shirokova N.Y. Duodenal mucosa in children with coeliac disease in catamnesis and varying compliance with the gluten-free diet. *Bratisl. Lek. Listy.* 2014; 3: 150–155.
16. Жукова Е.А., Грошовкина М.В., Романова С.В., Каплина Л.В., Коркоташвили Л.В. Нарушения активности ферментов первой фазы биотрансформации у детей с хроническими вирусными гепатитами С и В. *Медицинский альманах.* 2011; 4: 217–220.
17. Коркоташвили Л.В., Маткивский Е.А., Жукова Е.А., Колесов С.А., Федулова Э.Н. Ферменты немикросомальной биотрансформации у детей с заболеваниями органов пищеварения. *Педиатрия.* 2013; 6: 6–11.
18. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р., Новичкова М.Д., Саприн А.Н., Березов Т.Т. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов. *Вестник РАМН.* 2010; 3: 46–54.
19. Stojiljković V., Todorović A., Radlović N., Pejić S., Mladenović M., Kasapović J., Pajović S.B. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation in peripheral blood of children affected by coeliac disease. *Ann. Clin. Biochem.* 2007; 6: 537–543.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Успенская Ирина Дмитриевна**, доктор медицинских наук, заведующая отделом Клиники патологии тонкой кишки ННИИДГ

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 22, тел.: +7 (831) 436-01-13, e-mail: iusp@mail.ru

**Шабунина Евгения Ивановна**, доктор медицинских наук, профессор, директор ННИИДГ

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 22, тел.: +7 (831) 436-63-70, e-mail: niidg@mail.ru

**Жукова Елена Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ННИИДГ

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 22, тел.: +7 (831) 436-62-46, e-mail: zhulenn@mail.ru

**Ерзутова Марина Валерьевна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела Клиники патологии тонкой кишки ННИИДГ

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 22, тел.: +7 (831) 436-01-13, e-mail: ermariva@mail.ru

**Коркоташвили Любовь Васильевна**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторно-диагностическим отделом ННИИДГ

Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 22, тел.: +7 (831) 436-54-60, e-mail: lvkor@inbox.ru