



УДК 616.31-002-053:616-092

НЕЗГОДА І.І., НАУМЕНКО О.М., МАКУХ Г.В., БУК А.Я.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ В ПАТОГЕНЕЗІ РОТАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В ДІТЕЙ

Резюме. У статті наведені результати обстеження 40 дітей із діагнозом ротавірусної інфекції. Досліджено та проаналізовано перебіг ротавірусної інфекції залежно від установленого генотипу за поліморфізмом С > Т у позиції 13910 гена лактази (LCT). Установлено, що найтяжчий перебіг даної інфекції асоціюється з генотипами, які відповідають за непереносимість лактози, — С/С-13910 і С/Т-13910.

Ключові слова: ротавірусна інфекція, лактазна недостатність, діти.

Однією з важливих проблем сучасної гастроентерології є захворювання органів травлення, що супроводжуються порушенням кишкового всмоктування, так званим синдромом мальабсорбції. Найбільш часто зустрічається мальабсорбція дисахаридів: лактози, сахарози, мальтози, ізомальтози [7].

Зниження активності ферменту лактази призводить до неможливості розщеплення та засвоєння молочного цукру — лактози. Лактазна недостатність (ЛН) — вроджений чи набутий стан, що характеризується непереносимістю молока через відсутність або знижену активність ферменту лактази [2, 4].

Проблема ЛН найбільш актуальна для дітей раннього віку, тому що саме в даний віковий період молоко та молочні продукти становлять основну частку в раціоні дитини [2, 4, 8, 11, 14].

Темпи зниження активності лактази генетично детерміновані і чітко залежать від етнічної приналежності [8, 14]. Так, у Швеції, Данії ЛН становить 3 %, у Швейцарії — 16 %, в Англії — 20–30 %, у Європейській частині Росії — 16–18 %, тоді як у країнах Південно-Східної Азії — до 80–100 % [2, 8, 9, 14]. У західних слов'ян теж виявлені розбіжності в дефіциті лактази: у чехів ЛН становить 12,5 %, у поляків — 37,5 %, серед литовців та естонців ЛН зустрічається у 32 та 23 % відповідно. Цікавим є той факт, що дефіцит лактази серед українців (5,8 %) зустрічається у 2,2–2,8 рази рідше, ніж у росіян, і у 2,2 рази рідше, ніж у білорусів, хоча всі ці народи належать до єдиної східної групи слов'ян [8, 9, 14].

Відомо, що здатність розщеплювати молочний цукор пов'язана з активністю ферменту лактаза-

флоризингідролази, більше відомого як лактаза або β-D галактозидгідролаза. Лактаза-флоризингідролаза кодується єдиним геном (LCT), що локалізується на 2-й хромосомі [3, 7, 13, 15, 16]. Ген LCT складається з 17 екзонів, кодує мРНК, що копіює 6274 нуклеотидів і препропротеїн, що складається з 1927 амінокислотних залишків. Звільнений в результаті протеолізу попередник лактази під час транспортування в цитоплазмі піддається серії О- та N-глікозилювань, після чого й утворюється активний фермент — лактаза [7, 8, 15, 16].

Найбільш часто використовується класифікація, що розділяє ЛН на первинну та вторинну [7, 11, 17].

Первинна ЛН — вроджене зниження активності лактази при морфологічно незміненому ентероциті: вроджена (генетично обумовлена); транзиторна (ЛН недоношених і незрілих новонароджених); ЛН дорослого типу (конституційна ЛН) [7].

Вторинна ЛН виникає у зв'язку з ураженням ентероцита при інфекційному захворюванні (кишкова інфекція, особливо ротавірусної природи, кандидоз), запальних процесах в кишечнику, дефіциті трофічних факторів, атрофічних змінах (при целіакії, тривалому парентеральному харчуванні тощо) [6, 11].

Сьогодні ротавірусна інфекція вважається домінуючим етіологічним фактором гострих кишкових інфекцій (ГКІ) у дітей. Щороку у світі реєструється більше ніж 138 млн випадків даного захворювання серед дитячого населення [1, 5].

© Незгода І.І., Науменко О.М., Макух Г.В., Бук А.Я., 2013

© «Здоров'я дитини», 2013

© Заславський О.Ю., 2013

Останні наукові дослідження показали, що ротавірусний протеїн NSP4 є специфічним ентотоксином, здатним викликати секреторну діарею і запускати механізми розвитку дисахаридазної недостатності. Причому дисахаридазна недостатність обумовлена не загибеллю зрілих ентероцитів, як вважалося раніше, а блокадою функціонування SGLT1 (stronginhibitionofbothNa⁺ – d-glucose) залежного симпорту Na⁺-D-глюкози, що веде до зменшення всмоктування дисахаридів і реабсорбції води з кишечника. Також показано, що саме протеїн NSP4 викликає дефіцит фермента лактази-флоризингідролази за рахунок пригнічення активності його вивільнення з ентероцитів, при цьому виникає вторинна ЛН [1, 10, 12]. Ступінь цієї лактазної недостатності може варіювати від мінімальної до найбільш вираженої, це обумовлено, насамперед, генетично детермінованою активністю лактази, адже є відсоток дітей, у яких діагностується первинна лактазна недостатність [4].

Діагностика ЛН базується на оцінці анамнестичних даних, результатах навантажувальних проб, даних копрограми. Одним із найбільш сучасних і інформативних методів діагностики цього захворювання є генетичне дослідження [2, 7, 8, 11, 14, 16, 17].

Первинна гіполактазія і, відповідно, здатність утилізувати лактозу повністю корелює з поліморфізмом С > Т у позиції 13910 гена лактази (LCT). Ділянка поліморфізму гена розташована вище точки початку транскрипції, тобто в регуляторній ділянці гена лактази. Генотип С/С-13910 відповідає практично повній відсутності лактази. Генотип С/Т-13910 асоціюється зі зниженим рівнем лактази, але достатнім для нормальної дигестії. Генотип Т/Т-13910 свідчить про високу активність даного ферменту [3, 9, 14, 15].

Варто відмітити, що роботи з вивчення поліморфізму С > Т у позиції 13910 гена лактази (LCT) у дітей із ГКІ в Україні не проводились, тому метою на-

шої роботи було детальне вивчення особливостей клінічного перебігу ротавірусної інфекції залежно від генетично детермінованої активності ферменту на основі встановлених генотипів.

Дослідження проводилося на базі Вінницької обласної клінічної дитячої інфекційної лікарні на кафедрі дитячих інфекційних хвороб ВНМУ ім. М.І. Пирогова. За період з грудня 2012 року до лютого 2013 року під спостереженням перебувало 40 хворих віком від 3 місяців до 5 років із діагнозом ротавірусної інфекції. Діти віком від 3 міс. до 1 року становили 17,5 %, від 1 до 2 років — 35 %, дітей від 2 до 3 років — 25 %, віком від 3 до 4 років — 10 %, а діти 4–5-річного віку становили 12,5 % (рис. 1). Отже, серед обстежених хворих переважали діти від 1 до 3 років — 60 %. Розподіл хворих за статевим поліморфізмом виглядав таким чином: хлопчики та дівчатка становили 55 та 45 % відповідно (рис. 1).

Усім дітям проводився комплекс загальнолабораторних досліджень (загальний аналіз крові, сечі, копрограма, біохімічні дослідження). Для встановлення етіологічного чинника застосовувалися сучасні методи діагностики, а саме: імунохроматографічний аналіз випорожнень (ІХА) для виявлення ротавірусного антигена, імуноферментний аналіз випорожнень (ІФА) з індикацією рота-, норо-, астро-, аденовірусів та Clostridium difficile tox A/B та Clostridium difficile GDH за допомогою тест-систем фірми R-Biopharm (Німеччина), а також бактеріологічне дослідження випорожнень на предмет виявлення патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. Усі дослідження виконувались у перші дні надходження хворих до стаціонару.

Статистичну обробку всіх отриманих при дослідженні даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Під час статистичної обробки визначали такі показники: середня арифметична (М), середня помилка (m), рівень від-

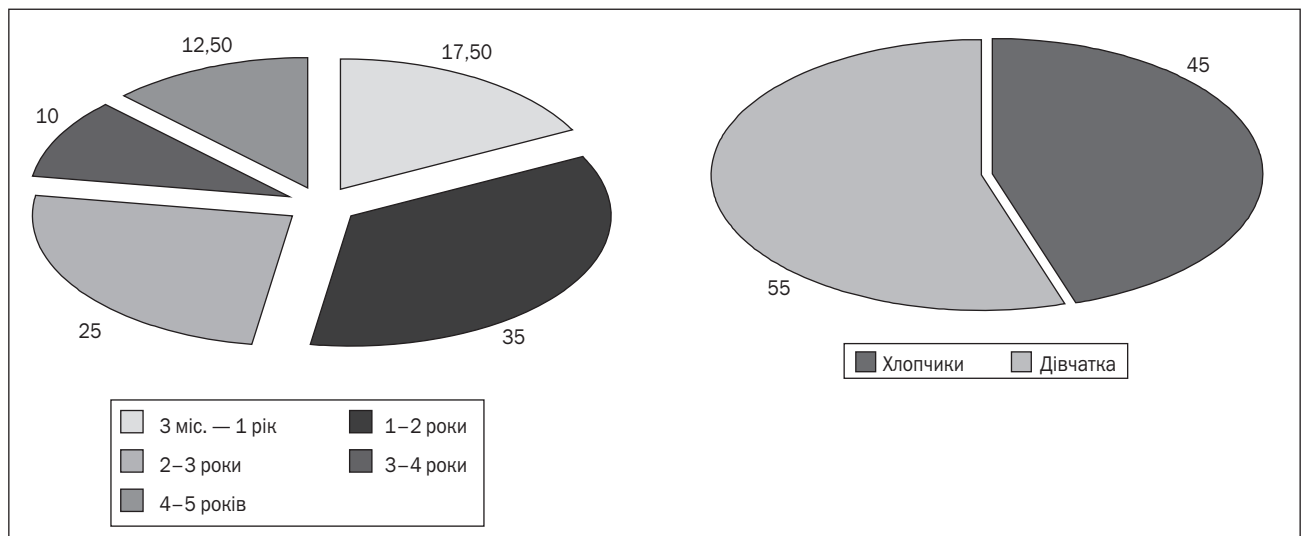


Рисунок 1. Розподіл дітей з ротавірусною інфекцією за віком та статтю (%)

мінностей між двома середніми величинами (довірча ймовірність — р). При цьому використовували персональний комп'ютер Pentium V Processor Intel Celeron у рамках статистичного пакета програми Statistica 10.0.

Крім того, вивчався поліморфізм гена LCT-13910 методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним рестрикційним аналізом (ПДРФ) на базі Інституту спадкової патології НАМН, м. Львів.

У більшості частини обстежених дітей (23 дитини) була діагностована моноінфекція — 57,5 %, в іншій частині ротавірусна інфекція перебігала у вигляді мікст-інфекції — 17 хворих (42,5 %) (рис. 2).

Найчастіше зустрічались комбінації ротавірус + умовно-патогенні бактерії (УПБ) — 37,5 %. Серед УПБ переважали *S.aureus* (35,3 %), *Citr.freundi* (17,6 %), *Pr.vulgaris* (11,8 %), *Enter.cloacae* (11,8 %), *Citr.intermedius* (11,8 %), рідше зустрічались *Enter.aerogenes* (5,9 %), *Citr.diversus* (5,5 %), *EPE 0 18* (5,9 %) та інші.

Комбінація ротавірус + *Clostridium difficile* була встановлена у 3 обстежених хворих (7,5 %), причому в 1 хворого виявили токсини А/В *Clostridium difficile*, інші діти були здоровими носіями даного мікроорганізму, в них був ідентифікований лише фермент глютаматдегідрогеназа *Clostridiumdifficile* без токсиноутворення.

Асоціації ротавіруса з двома та більше УПБ діагностувались у 4 дітей (10 %). У жодної дитини не діагностували астровірусної та аденовірусної інфекції. В 1 дитини (2,5 %) із кишечника виділявся не лише ротавірус, а й норвірус, причому в комбінації з *Citr.intermedius*.

У дітей віком від 3 міс. до 1 року найчастіше зустрічались такі асоціанти, як *S.aureus* (18,7 %), *Enter.cloacae* (12,5 %), *Citr.freundi* (8,7 %). Серед дітей вікової групи 1–2 років переважали *Pr.vulgaris* (11,5 %), *Citr.intermedius* (9,7 %). У хворих старшої вікової групи (3–5 років) відсоток умовно-патогенної мікрофлори зменшувався, і в 76 % дітей ротавірусна інфекція перебігала у вигляді моноінфекції.

За результатами молекулярно-генетичного дослідження всі діти були розподілені за встановленими генотипами LCT-13910 на три групи. У першу групу увійшли діти з генотипом С/С-13910, що відповідає практично повній відсутності лактази — 21 хворий (55,3 %), другу групу сформу-

вали 13 хворих — 34,2 % із генотипом С/Т-13910, що асоціюється зі зниженим рівнем лактази, але достатнім для нормального травлення. Третя група — 4 дитини (10,5 %) з установленим генотипом Т/Т-13910, що свідчить про високу активність даного ферменту.

У дітей із генотипом С/С-13910 коінфекція з УПБ зустрічалась у 9 дітей, що становить 22,5 %, серед дітей із генотипом С/Т-13910 — у 6 дітей (15 %), а в дітей із генотипом Т/Т-13910 взагалі не фіксувалася коінфекція, і ротавірусна інфекція перебігала у вигляді моноінфекції.

У всіх досліджуваних групах серед клінічних симптомів ротавірусної інфекції найбільш часто спостерігались діарея (100 %), блювання (72,5 %), лихоманка (82,5 %) та симптоми зневоднення (32,5 %).

Середня тривалість (М ± m) діарейного синдрому в обстежених дітей становила 4,60 ± 0,38 дня. Найбільш тривало — 5,36 ± 0,70 дня діарея зберігалась у дітей 2-ї групи, які мають генотип С/Т-13910, саме в таких дітей, за даними літератури, найбільш часто розвивається вторинна ЛН [13]. У 1-й групі дітей, яким був установлений генотип С/С-13910, середня тривалість діареї становила 4,66 ± 0,46 дня. Статистичної різниці за даними показниками в 1-й та 2-й групі не спостерігалось.

Що стосується 3-ї групи дітей із генотипом Т/Т-13910, який свідчить про високу активність лактази, тривалість діарейного синдрому була вірогідно меншою, ніж у попередніх групах (р < 0,019 і р < 0,02 відповідно) і становила 2,20 ± 0,58 дня.

Зміни в копрограмі у вигляді включень нейтрального жиру спостерігались переважно в дітей 1-ї групи з генотипом С/С-13910, який відповідає за непереносимість лактози (95,2 %). Цей показник у 2-й групі становив 64 %, а в 3-й — усього 20 %, неперетравлена клітковина також переважала в копрограмі дітей із гіполактазією — 76,2 %, наявність крохмалю більшою мірою спостерігалась в дітей 2-ї групи — 64,3 % і практично не відмічалась у 3-й групі дітей (рис. 3).

Висновки

1. На сьогодні серед ГКІ переважають секреторні діареї, на перший план у дітей раннього віку виходить ротавірусна інфекція.

2. У більшості дітей (57,5 %) реєструється ротавірусна моноінфекція, а в 42,5 % хворих — мікст-інфекція. Найчастіше зустрічається комбінація

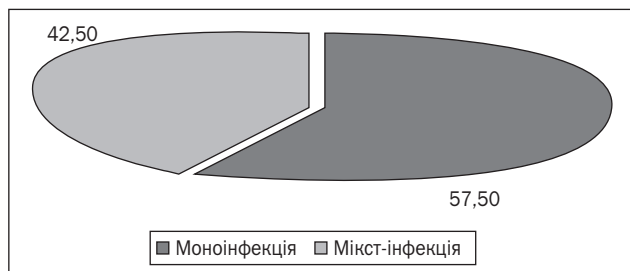


Рисунок 2. Етіологічна структура ротавірусної інфекції у дітей (%)

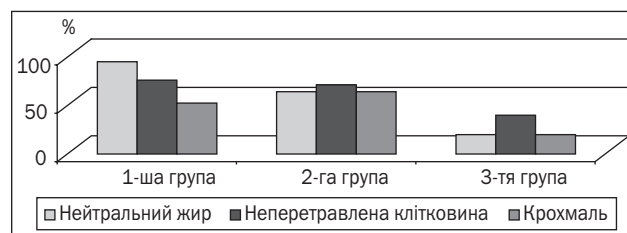


Рисунок 3. Окремі показники копрограми у хворих на ротавірусну інфекцію в досліджуваних групах

ротавірус + УПБ. Етіологічним фактором бактеріальної коінфекції частіше є *S.aureus* (35,3 %), *Citr. freundii* (17,6 %), *Pr.vulgaris* (11,8 %).

3. Мікст-варіанти ротавірусної інфекції найчастіше зустрічаються в дітей молодшої вікової групи (3 міс. — 3 роки), натомість у дітей віком від 3 до 5 років реєструється лише моноінфекція.

4. При аналізі поліморфізму гена LCT-13910 в дітей із ротавірусною інфекцією домінує генотип С/С-13910 — у 55,3 % обстежених, частота зустрічальності генотипу С/Т-13910 — 34,2 %, і тільки в 10,5 % дітей типуються генотип Т/Т-13910.

5. Коінфекція з УПБ переважає в дітей із генотипом С/С-13910 — 22,5 %, а в дітей із генотипом Т/Т-13910 ротавірусна інфекція перебігає як моноінфекція.

6. Виражені ознаки вторинної лактазної недостатності визначаються у хворих із генотипами С/С-13910 і С/Т-13910. Легкий перебіг ротавірусної інфекції асоціюється з генотипом Т/Т-13910.

7. Найбільш значні зміни в копрограмі, що свідчать про синдром мальабсорбції, спостерігаються в дітей із генотипами, що відповідають за непереносимість лактози, — С/С-13910 і С/Т-13910.

Список літератури

1. Абатуров А.Е. Подходы к лечению ротавирусной инфекции у детей / А.Е. Абатуров, Ю.Ю. Степанова, О.Л. Кривуша, О.М. Герасименко // Современная педиатрия. — 2013. — № 1(49). — С. 37-41.
2. Валенкевич Л.Н. Современные взгляды на проблему гиполактазии / Л.Н. Валенкевич, О.И. Яхонтова, М.Э. Шубина // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2000. — № 4. — С. 24-28
3. Делягин В.М. Полиморфизм гена лактазы у детей с atopическими заболеваниями / В.М. Делягин, К.Г. Каграманова, Е.Г. Шузурина, И.В. Сичинава, М.В. Соколова, С.А. Боринская, Н.К. Янковский // Педиатрия. — 2008. — Т. 87, № 4. — С. 15-18.
4. Кондракова О.А. Нарушение микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста с вторичной лактазной недостаточностью / О.А. Кондракова, Л.Н. Мазанкова, А.М. Затевалов, Л.В. Бегашвили, В.Н. Бабин, А.В. Дубинин // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. — 2008. — № 2. — С. 74-81.

5. Крамарев С.А. Ротавирусная инфекция: эпидемиология и профилактика / С.А. Крамарев, Л.В. Загордонце // Здоровье ребенка. — 2011. — № 1(28). — С. 53-55.

6. Марушко Ю.В. Проблема кишечных колик и лактазная недостаточность у детей / Ю.В. Марушко, Т.В. Иовица, М.А. Аль-Наджар // Современная педиатрия. — 2012. — № 2(42). — С. 114-119.

7. Мисник В. П. Непереносимость лактозы. Современные принципы патогенетической терапии / В.П. Мисник // Therapia. — 2007. — № 12. — С. 60-64.

8. Нагорная Н.В. Лактазная недостаточность у детей / Н.В. Нагорная, Е.В. Бордюгова, А.В. Дубовая // Здоровье ребенка. — 2012. — № 7. — С. 107-114.

9. Соколова М.В. Полиморфизм С/Т 13910 регуляторного участка гена лактазы LCT и распространенность гиполактазии в популяциях Евразии / М.В. Соколова, Е.В. Васильев, А.И. Козлов // Экологическая генетика. — 2002. — Т. 4, № 3. — С. 25-34.

10. Халиуллина С.В. Вторичная лактазная недостаточность в клинике ротавирусных кишечных инфекций у детей / С.В. Халиуллина, В.А. Анохина, И.А. Гутор // Практич. медицина. — 2010. — № 6(45). — С. 44-47.

11. Шадрин О.Г. Проблемные вопросы течения и терапии лактазной недостаточности у детей раннего возраста / О.Г. Шадрин, Т.Л. Марушко, В.П. Мисник, В.М. Фисун, К.Р. Марушко // Современная педиатрия. — 2011. — № 6(40). — С. 157-162

12. An NSP4-dependant mechanism by which rotavirus impairs lactase enzymatic activity in brush border of human enterocyte-like Caco-2 cells / Beau I., Cotte-Laffitte J., Geniteau-Legendre M. [et al.] // Cell. Microbiol. — 2007. — Vol. 9(9). — P. 2254-66.

13. Basso M.S. Association between celiac disease and primary lactase deficiency / M.S. Basso, R. Luciano, F. Ferretti, M. Muraca, F. Panetta, F. Bracci, S. Ottino, A. Diamanti // Eur. J. Clin. Nutr. — 2012. — № 66(12). — P. 1365-1365.

14. Grand R.J. Lactose malabsorption/ R.J. Grand, R.K. Montgomery // Curr. Treat Options Gastroenterol. — 2008. — № 11(1). — P. 19-25.

15. Heyman M.B. Lactose intolerance in infants, children and adolescents / M.B. Heyman // Pediatrics. — 2006. — Vol. 118(3). — P. 1279-1286.

16. Montalto M. Management and treatment of lactose malabsorption/ M. Montalto, V. Curigliano, L. Santoro, M. Vastola, G. Cammarota, R. Manna, A. Gasbarrini, G. Gasbarrini // World J. Gastroenterol. — 2006. — № 12(2). — P. 187-191.

17. Usai-Satta P. Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management / P. Usai-Satta, M. Scarpa, F. Oppia, F. Cabras // World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther. — 2012. — № 6(3). — P. 29-33.

Отримано 11.05.13 □

Незгода І.І., Науменко О.Н., Макух Г.В., Бук А.Я.
Винницький національний медичинський університет
ім. Н.І. Пирогова

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РОТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Резюме. В статье приведены результаты обследования 40 детей с диагнозом ротавирусной инфекции. Исследовано и проанализировано течение ротавирусной инфекции в зависимости от установленного генотипа по полиморфизму С > Т в позиции 13910 гена лактазы (LCT). Установлено, что самое тяжелое течение данной инфекции ассоциируется с генотипами, которые отвечают за непереносимость лактозы, — С/С-13910 и С/Т-13910.

Ключевые слова: ротавирусная инфекция, лактазная недостаточность, дети.

Nezgodia I.I., Naumenko O.M., Makukh G.V., Buk A.Ya.
Vinnytsya National Medical University named
after M.I. Pyrogov, Vinnytsya, Ukraine

GENETIC FACTORS IN THE PATHOGENESIS OF ROTAVIRUS INFECTION IN CHILDREN

Summary. The paper presents the results of examination of 40 children with a diagnosis of rotavirus infection. We examined and analyzed the clinical course of rotavirus infection depending on the genotype in polymorphism C > T at position 13910 of lactase gene (LCT). It is found that the most severe course of infection is associated with genotypes that are responsible for lactose intolerance — C/C-13910 and C/T-13910.

Key words: rotavirus infection, lactase deficiency, children.