

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ХРОНІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ КИШЕЧНИКУ

Т.Д. Звягінцева, С.В. Грігнєва

Харківська медична академія післядипломної освіти

Ключові слова: оксид азоту, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, слизова оболонка товстої кишки, малоновий діальдегід, каталаза, глутатіонредуктаза.

Багато питань, пов'язаних з патогенезом хронічних захворювань кишечника досі лишаються актуальними. На сучасному етапі дослідники провідних наукових центрів світу пов'язують розвиток захворювань кишечника з ендотеліальною дисфункцією, одним з виявів якої є зниження вмісту оксиду азоту (NO) [1, 11].

NO утворюється в ендотеліальних клітинах судин як у звичайному стані, так і у відповідь на різні стимули — ацетилхолін, гістамін, тромбін. При розслабленні гладких м'язів судин, що викликає NO, виникає вазодилатація, збільшення кровоплину, зниження периферичного опору судин [6].

Важливою молекулярною мішенню NO є активні форми кисню (АФК), які продукує судинний ендотелій. Надлишкова генерація АФК є ініціаторною ланкою у продукції ендотоксинів, що накопичуються у вигляді ліпоперекисних та інших біологічно активних сполук та дають виражену судинозвужувальну дію [3].

Володіючи високою реакційною здатністю, NO може як активувати ланцюгові вільнорадикальні реакції, так і пригнічувати їх [14].

В умовах окисного стресу відбуваються генерація АФК і активація NOS. NOS своєю чергою сприяє і збільшенню вмісту NO у клітинах та посиленню вазодилатації, і активуванню антиоксидантної системи захисту, що призводить до пригнічення синтезу АФК і ПОЛ [14].

В той же час диспропорційне збільшення формування радикалів кисню може призводити до підвищеного руйнування NO і ослаблення вазодилатації. Цей факт підтверджує відновлення порушених ендотеліальних судинних реакцій при лікуванні з супероксиддисмутазою (СОД), що нейтралізує радикали кисню [5].

Тенденція до утворення надмірної кількості кисневих радикалів зумовлює порушення в мікроциркуляції, вони діють як медіатори адгезії у системах лейкоцит — ендотеліальна клітина, лейкоцитарно-тромбоцитарної агрегації та просочування білків, що характерно для гострої запальної реакції. Порушення балансу між рівнями супероксид-аніону

та NO індукує гостре запалення шляхом як активації опасистих клітин та їхньої дегрануляції, так і адгезії лейкоцитів до ендотелію. NO пригнічує адгезію лейкоцитів до ендотелію [10].

Один з захисних ефектів NO пов'язаний із його здатністю активізувати антиоксидантні ферменти. Крім того, сама молекула NO володіє антиоксидантними властивостями [4].

У вісімдесяти роки дослідження, пов'язані з NO, були переважно присвячені серцево-судинній системі, а в дев'яностих у значній кількості таких досліджень автори торкнулися чи не всіх функціональних систем, включаючи і шлунково-кишковий тракт [9].

Nickols і співавтори (1994) уперше довели наявність синтезу NO в ендотелії і гладком'язових клітинах кровеносних судин підслизового шару кишечника пацюка і людини [17].

Механізми перистальтики кишечника NO-залежні. У стані фізіологічного спокою секреція NO постійно справляє пригнічувальний вплив тонус і перистальтику кишечника. NO бере участь у нейрогенному неадренергічному нехолінергічному розслабленні гладких м'язів кишечника [9]. Приблизно 5% усіх прегангліонарних нейронів, що іннервують шлунково-кишковий тракт, є нітнергічними. Їхня стимуляція супроводжується секрецією NO і релаксацією циркулярних м'язів кишечника [13].

Є дослідження, присвячені вивченню ролі NO в патогенезі неспецифічного виразкового коліту [16, 18], проте в доступній нам літературі не вдалося знайти даних про роль NO у патогенезі хронічного невиразкового коліту.

У розвитку захворювань кишечника важливу роль відіграють порушення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту (АОЗ) [2].

Встановлено, що у фізіологічних умовах рівень ПОЛ підтримується завдяки рівновазі системи антиоксидантів і прооксидантів. Позитивний вплив процесів ПОЛ на живий організм виявляється у відновленні складу та підтриманні властивостей бі-

ологічних мембран, участі в енергетичних процесах, клітинному поділі. Цей вплив забезпечується системою антиоксидантного захисту (АОЗ) — сукупністю ферментативних та неферментативних чинників, які забезпечують захист клітин від вільних радикалів, що утворилися і таким чином підтримують інтенсивність ПОЛ на стаціонарному рівні [7].

До неферментативної антиоксидантної системи належать жиророзчинні (α -токоферол, убіхінон, каротин, стероїдні гормони) і водорозчинні (натрію тіосульфат, глутатіон, аскорбінова, лимонна, нікотинова кислоти) антиоксиданти. До антиоксидантних ферментів належать СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонредуктаза (ГР) [7].

Дисбаланс у рівновазі між процесами ПОЛ і системою АОЗ, що виникає за гіперпродукції вільних радикалів або за падіння рівня тканинних антиоксидантів, викликає лавиноподібну реакцію перекиснення, яка призводить до загибелі клітин [8].

Процеси ПОЛ останнім часом інтенсивно вивчаються при захворюваннях шлунково-кишкового тракту [2].

Інтенсифікація процесів ПОЛ при хронічних захворюваннях кишечника виявляється підвищенням вмісту первинних — дієнових, трієнових, оксодієнових, тетраєнових кон'югат та вторинних — малонового діальдегіду (МДА) продуктів ПОЛ у крові. Водночас спостерігається пригнічення ферментної та неферментної ланок антиоксидантного захисту — виснаження активності каталази, СОД, зниження рівня жиророзчинних вітамінів, забезпечення тканин глутатіоном [2].

Оскільки оцінка продуктів ПОЛ ґрунтується переважно на даних, отриманих під час вивчення його показників в крові, що ускладнює інтерпретацію органної патології, певний інтерес становить кількісна оцінка активності ПОЛ та АОЗ у тканинах з використанням біопсійного матеріалу. Встановлено зниження рівня вітамінів А, Е, β -каротину, загальної антиоксидантної активності в слизовій оболонці дванадцятипалої кишки при синдромі подразненого кишечника та хронічному ентериті [2]. Дослідники [15] виявили підвищення активності СОД, ГПО, глутатіонтрансферази за одночасного незмінного рівня продуктів ПОЛ у мітохондріальних фракціях пухлин товстої та прямої кишок. Інші автори [12] вказують на значне підвищення активності антиоксидантних ферментів СОД, каталази, ГПО в запаленій слизовій оболонці при неспецифічному виразковому коліті. Активність цих ферментів підвищувалася також у тканинах поліпів кишечника, як під час загострення неспецифічного виразкового коліту, так і в період клінічної ремісії. В доступних джерелах вітчизняної та закордонної літератури практично немає даних про дослідження ферментної ланки АОЗ у тканинах при хронічному невиразковому коліті.

З огляду на тісний взаємозв'язок NO та процесів ПОЛ — АОЗ як основних ланок патогенетичного ланцюжка при захворюваннях кишечника вивчення ролі цих показників у розвитку хронічного неви-

разкового коліту є, безсумнівно, актуальним завданням.

Мета дослідження — визначення вмісту NO в сироватці крові та продуктів ПОЛ — АОЗ у плазмі крові та СОТК у хворих на хронічний невиразковий коліт.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 95 хворих на хронічний невиразковий коліт віком від 20 до 55 років з тривалістю захворювання від 5 до 20 років. Контрольну групу становили 11 практично здорових осіб. Діагноз верифіковано за допомогою лабораторних (бактеріологічне дослідження фекалій), інструментальних (ректороманоскопія, колоноскопія, іригоскопія) та гістологічних (морфологічне дослідження біоптатів зі СОТК) методів дослідження. Уміст NO (нітриту) в сироватці крові визначали спектрофотометрично методом Грісса — Іосвая із сульфаніловою кислотою та α -нафтіламіном. Уміст вторинних продуктів ПОЛ — МДА та ферментів АОЗ — каталази та ГР визначали в плазмі крові й СОТК спектрофотометричним методом за стандартними методиками.

У клінічній картині захворювання 90% пацієнтів з хронічним невиразковим колітом мали конституційний синдром — не було самостійного випорожнення протягом від 3 до 7 днів. Больовий синдром різної інтенсивності та локалізації виявлено у 84% пацієнтів. З диспептичних явищ найчастіше — у 80%, спостерігався метеоризм, бурчання в животі було в 76%, відрижка повітрям — у 36%, нудота, здебільшого вранці — у 29% хворих. У 85,7% виявлено астеновегетативний синдром у вигляді слабкості, роздратування, зниження працездатності. Під час об'єктивного огляду живіт був здутий та болісний при пальпації у 87% пацієнтів. При пальпації характерна різна локалізація болісних відчуттів. Найчастіше, у 69,5% хворих, по всьому животу, по ходу висхідного, поперечно-ободового та низхідного відділів товстої кишки — у 23,8%, у 6,7% обстежених живіт був безболісний.

При ректороманоскопії у 83,8% хворих на хронічний невиразковий коліт переважали набряк та виразна гіперемія слизової оболонки товстої кишки, помірну гіперемію слизової мали 16,2%, згладженість судинного малюнку — 90,5%, у 74,3% пацієнтів був підвищений уміст слизу в просвіті кишечника. У 13,3% хворих спостерігалася виражена збористість слизової оболонки кишки. Більше ніж у половини (55,2%) пацієнтів виявлено збільшення гемороїдальних вузлів, поліпи товстої кишки — у 4,8%, анальна тріщина — у 5,7%.

Морфологічні зміни в слизовій оболонці товстої кишки при хронічному невиразковому коліті супроводжувалися утворенням клітинного інфільтрату, до складу якого входили лімфоцити, плазмоцити, еозинофіли та нейтрофіли. Якщо запальний інфільтрат не виходив за межі ворсинок, то процес мав поверхневий характер, якщо він охоплював всю товщу слизової — розвивалося дифузне ураження. Спостерігалася сплоснення покровного епі-

телію, на окремих ділянках — його осередкова десквамація з утворенням поверхневих хронічних мікроерозій з нижніми накладаннями фібрину, підлеглою інтенсивною дифузною лімфоплазм-цитарною інфільтрацією власної пластинки слизової. Було характерно поглиблення кишкових крипт, набряклість пластинки слизової поза поверхневими мікроерозіями.

При колоноскопії у 72,4% пацієнтів з хронічним невиразковим колітом виразна гіперемія, набряк слизової оболонки та згладженість судинного малюнку спостерігалися на всій довжині від баугінієвої заслінки до прямої кишки, у 11,4% — набряк, виразно гіперемована слизова оболонка та згладжений судинний малюнок тільки в прямій та сигмоподібній кишках, у 16,2% хворих — помірна гіперемія слизової оболонки на всьому протязі товстої кишки.

Рентгенологічне дослідження кишечника проводили, щоб мати уявлення про структурні зміни товстої кишки. Виявлено: нерівномірність гаустрації — у 89,5% хворих, її згладженість — у 68,6%, недостатнє спорожнення кишечника — у 67,6%, спастичні явища по товстій кишці — у 60%, грубий рельєф слизової оболонки — у 57,1% пацієнтів, подовження сигмоподібної кишки — у 56,2%. У 9,5% обстежених провисав поперечно-ободовий відділ, низько розташовані праве та поперечно-ободовий відділи — у 32,4% пацієнтів. У 38% спостерігалася недостатність баугінієвої заслінки.

Проведені дослідження мікробіоценозу кишечника засвідчили, що 22,85% хворих на хронічний невиразковий коліт мали еубіоз. Дисбактеріоз I

ступеня виявлено у 5,7%, II ступеня — 60,95%, III ступеня — 10,5% обстежених.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

У хворих на хронічний невиразковий коліт було виявлено достовірно знижений порівняно з групою контролю рівень NO — $(1,7 \pm 0,05)$ мг/л ($P < 0,01$). Отримані дані свідчать про підвищення тону-су стінки кишечника і порушення функції судинного ендотелію, що виявляється вираженою вазодилатацією і призводить до порушення мікроциркуляції у кишкової стінці.

Порушення в системі ПОЛ — АОЗ виявлялися достовірним підвищенням у плазмі крові, порівняно з групою контролю, рівню МДА — $(12,9 \pm 1,0)$ нм/г білка ($P < 0,05$), зниженням активності каталази — $(3,3 \pm 0,13)$ од. акт / (хв × г білка) ($P < 0,05$), підвищенням активності ГР $(13,11 \pm 0,48)$ нм НАДФН / (хв × г білка) ($P < 0,01$). Дані про вміст продуктів ПОЛ — АОЗ у плазмі крові при хронічному коліті наведено в табл. 1.

Зменшення рівня NO за одночасного підвищення процесів ліпопероксидації і зниження антирадикального захисту в обстежених з хронічним невиразковим колітом свідчать про підвищену інактивацію NO внаслідок диспропорційного збільшення формування кисневих радикалів, що узгоджується з даними літератури [4].

Зниженням утриманням NO у стінці кишечника пояснюються також явища констипаційного синдрому в клінічній картині захворювання, оскільки механізми перистальтики кишечника і релаксація його м'язів є NO-залежними [11, 12].

Таблиця 1. Вміст продуктів ПОЛ — АОЗ у плазмі крові хворих на хронічний невиразковий коліт (М ± m)

Вміст продуктів ПОЛ — АОЗ	МДА, нм / г білка	Каталаза, од. акт / (хв × г білка)	ГР, нм НАДФН / (хв × г білка)
Хворі на хронічний невиразковий коліт	$12,9 \pm 1,0$	$3,3 \pm 0,13$	$13,11 \pm 0,48$
Група контролю	$4,0 \pm 0,27$	$5,9 \pm 0,51$	$10,5 \pm 0,85$
P	< 0,05	< 0,05	< 0,01

Таблиця 2. Вміст продуктів ПОЛ — АОЗ в СОТК хворих на хронічний невиразковий коліт (М ± m)

Вміст продуктів ПОЛ — АОЗ	МДА, нм / г білка	Каталаза, од. акт / (хв × г білка)	ГР, нм НАДФН / (хв × г білка)
Хворі на хронічний невиразковий коліт	$3933 \pm 407,69$	$398,5 \pm 37,16$	$2843,8 \pm 293,77$
Група контролю	$397 \pm 86,1$	$1640,45 \pm 160,31$	$521,75 \pm 59,11$
P	< 0,001	< 0,001	< 0,001

У хворих на хронічний невиразковий коліт були порушені процеси ПОЛ — АОЗ у слизовій оболонці різних відділів товстої кишки, які виявлялися вірогідно підвищеним, порівняно з контрольною групою, рівнем МДА — $(3933 \pm 407,69)$ нм / г білка ($P < 0,001$), показником ГР — $(2843,8 \pm 293,77)$ нм НАДФН / (хв \times г білка) ($P < 0,001$) та зниженим рівнем каталази — $(398,5 \pm 37,16)$ од. акт / (хв \times г білка) ($P < 0,001$). Підвищений рівень ГР розцінено як компенсаторну реакцію організму на перевищення фізіологічного рівня ПОЛ.

Дані про вміст продуктів ПОЛ — АОЗ у СОТК хворих на хронічний невиразковий коліт представлено в табл. 2

Виявлені порушення процесів ПОЛ — АОЗ в СОТК свідчать про біохімічні порушення на клітинному рівні, деформацію та ушкодження клітинних біомембран і судин, що підвищує їхню проникність для іонів кальцію з подальшим порушенням клітинного травлення й посиленням запального процесу в товстій кишці.

Простежувалася пряма кореляційна залежність між показниками МДА в плазмі крові та в СОТК ($r = 0,5$) ($P < 0,01$), ГР у плазмі крові та в СОТК ($r = 0,63$) ($P < 0,01$), каталазою в плазмі крові та в СОТК ($r = 0,7$; $P < 0,001$). Залежність ступеня інактивації NO від збільшення кількості кисневих радикалів підтверджується виявленою зворотною кореляційною залежністю між NO та МДА ($r = -0,6$) ($P < 0,01$).

ВИСНОВКИ

1. У хворих на хронічний невиразковий коліт виявлено ендотеліальну дисфункцію у вигляді зниженого рівня оксиду азоту в сироватці крові.

2. Порушення в системі ПОЛ — АОЗ виявлялися підвищеним рівнем МДА та ГР, а також зниженим рівнем каталази в плазмі крові та СОТК.

3. Виявлено пряму кореляційну залежність між вмістом продуктів ПОЛ — АОЗ в плазмі крові та в СОТК, зворотною кореляційну залежність між вмістом оксиду азоту та МДА в плазмі крові.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бычков И.Н., Алексеев Е.Е. Генерация оксида азота у больных с синдромом раздраженного кишечника // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— Приложение № 17.— 2002.— № 5.— С. 53.
2. Звягинцева Т.Д., Плутенко И.М. Изменение ПОЛ и антиоксидантной активности у больных с патологией тонкой кишки под влиянием альтана // Гастроэнтерология: міжвід. зб.— Дніпропетровськ.— 1999.— Вип. 29.— С. 97—100.
3. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 2000.— № 4.— С. 16—21.
4. Корж А.Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия // Междунар. мед. журн.— 2003.— № 1.— С. 130—134.
5. Корж А.Н. Особенности эндотелиальной функции при нарушении липидного обмена.— Достижения и перспективы развития терапии в канун XXI века.— Сб. науч. трудов.— Харьков, 2000.— С. 191—196.
6. Кульчицкий О.К. Эндотелиальная функция и процесс старения // Лікування та діагностика.— 2002.— № 4.— С. 6—9.
7. Овсянникова Л.М., Носач Е.В. Антиоксидантные препараты: проблема выбора // Doctor.— 2003.— № 1.— С. 74—76.
8. ПОЛ: Особливості реалізації у хворих на хронічний ентерит / Пасієшвілі Л.М., Супрун О.В., Бобро Л.М., Заздравнов А.А., Шапкін В.Є. та ін. Новые горизонты в развитии терапии.— Сб. науч. трудов к 125-летию каф. госпит. терапии.— Харьков, 2002.— С. 259—264.
9. Поленов С.А. Окись азота в регуляции функций желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 1998.— Т. 8, № 1.— С. 53—60.

10. Шимановский Н.А., Гуревич К.С. Роль оксида азота в механизмах действия лекарственных веществ // Междунар. мед. журн.— 2000.— № 1.— С. 104—107.
11. Яковлев А.А. Состояние системы: оксид азота — эндотелиновые пептиды — эндотелиальный фактор роста у больных с разными формами синдрома раздраженного кишечника // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— Приложение № 17.— 2002.— № 5.— С. 66.
12. Beno I., Staruchova M., Volkovova K. Ulcerative colitis: activities of antioxidant enzymes in the colonic mucosa // Presse Medicale.— 1997.— Vol. 26 (31)— P. 1474—1477.
13. Boeckstaens G.E., Pelckmans P.A. Nitric oxide and the non-adrenergic non-cholinergic neurotransmission // Comparative Biochemistry, Physiology, Part A. Physiology.— 1997.— Dec.— P. 925—937.
14. Chun Tae-Hwa, Itoh H., Saito T. et al. Oxidative stress augments secretion of endothelium-derived relaxing peptides, C-type natriuretic peptide and adrenomedullin // J. Hypertension.— 2000.— Vol. 18.— P. 575—580.
15. Kanbalgi O., Ozdemirler G., Bulut T. et al. Mitochondrial lipid peroxides and antioxidant enzymes in colorectal adenocarcinoma tissues // Gastroenterology.— 2001.— Vol. 59.— N 4.— P. 205.
16. Levine J.J., Pettei M.J., Valderrama E. et al. Nitric oxide and inflammatory bowel disease: evidence for local intestinal production in children with active colonic disease // J. Pediatr. Gastroenterol. and Nutrition.— 1998.— 26 (1)— P. 34—38.
17. Nickols K., Staines W., Rubin S., Krantis A. Distribution of nitric oxide synthase activity in arterioles and venules of rat and human intestine // Am. J. Physiol.— 1994.— Aug.— 26.— P. G270—G275.
18. Roberts P.J., Riley G.P., Morgan K. et al. The physiological expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the human colon // J. Clin. Pathol.— 2001.— 54 (4)— P. 293—297.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА**Т.Д. Звягинцева, С.В. Гриднева**

У больных хроническим колитом выявлена эндотелиальная дисфункция в виде сниженного содержания оксида азота в сыворотке крови, нарушения процессов перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты в виде повышенного уровня малонового диальдегида, глутатионредуктазы, сниженного уровня каталазы в плазме крови и слизистой оболочке толстой кишки. Установлена прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием продуктов перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты в плазме крови и слизистой оболочке толстой кишки, обратная взаимосвязь между содержанием оксида азота и малонового диальдегида в плазме крови.

THE MODERN APPROACHES TO DIAGNOSTICS OF BOWEL CHRONIC DISEASES**T.D. Zvjagintseva, S.V. Gridneva**

Endothelial dysfunction in the form of decreased nitric oxide levels in blood serum, abnormalities of lipid peroxidation and antioxidant protection processes in the form of increased levels of malonic dialdehyde, glutathione reductase, decreased level of catalase in blood plasma and tunica mucosa of large intestine in patients with chronic colitis has been revealed. The direct correlation between the contents of lipid peroxidation products and antioxidant protection in blood plasma and tunica mucosa of large intestine, and inverse correlation between blood nitric oxide level and malonic dialdehyde in blood plasma have been established.