

УДК 616.3: 612.014.3: 616-07-053. 2/6

© А.О. Кот, 2012.

## ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ В ПЕРИОДЕ ОБОСТРЕНИЯ

А.О. Кот

Кафедра педиатрии с курсом инфекционных болезней (зав. каф. – проф. Лагунова Н.В.), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

### ESTIMATION OF SOME MARKERS OF APOPTOSIS FOR CHILDREN WITH CHRONIC GASTRO-DUODENAL PATHOLOGY IN THE PERIOD OF INTENSIFYING

А.О. Кот

## SUMMARY

This paper presents the results of the study of apoptosis markers sCD 95 and Annexin V in children with chronic gastritis associated with Hp, chronic gastritis not associated with Hp and duodenal ulcer disease associated with Hp in the period of acute phase treatment in hospital.

### ОЦІНКА ДЕЯКИХ МАРКЕРІВ АПОПТОЗУ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНОЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ В ПЕРІОДІ ЗАГОСТРЕННЯ

А.О. Кот

## РЕЗЮМЕ

У цій роботі представлені результати дослідження маркерів апоптозу sCD 95 і Аннексина V у дітей з хронічним Hp-асоційованим гастритом, хронічним Hp-неасоційованим гастритом і виразковою хворобою дванадцятипалої кишки Hp-асоційованою в періоді загострення на етапі стаціонарного лікування.

**Ключевые слова:** дети, гастродуоденальная патология, апоптоз.

Заболевания гастродуоденальной зоны занимают одно из лидирующих мест по распространенности в педиатрической практике. На основании результатов мониторинга диспансеризации детского населения установлено, что у детей шестилетнего возраста гастроэнтерологические заболевания в 2005-2007гг. составляли 10699 на 100000 детского населения. У подростков 14-25 лет был рост болезней органов пищеварения в среднем на 25% [ 1 ].

В настоящее время доказано, что диагноз хронический гастрит и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки основывается на воспалении и дисрегенераторных процессах, при этом выявляются нарушения структуры слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. Одновременно с этим в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки происходит постоянное активное обновление клеток. Каждую минуту погибает около полумиллиона эпителиоцитов и столько же появляется вновь.

На клеточном уровне постоянно протекающие деление и рост должны сопровождаться альтернативным процессом удаления старых поврежденных клеток. Высокорегулируемую форму программированной смерти клетки с характерными морфологическими и биохимическими признаками определяют как апоптоз [ 2 ].

Апоптозу принадлежит важнейшая роль, как в

физиологических, так и в патологических условиях, поскольку и подавление, и неадекватное его усиление ведут к патологическим изменениям органов и тканей [ 3, 4, 5 ]. Все больше внимания уделяется изучению апоптоза с точки зрения влияния его на различные патологические процессы.

В связи с этим целью работы было изучение некоторых маркеров апоптоза у детей с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в периоде обострения на этапе стационарного лечения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 65 детей с хронической гастродуоденальной патологией в периоде обострения, находящихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении КРУ «Детская клиническая больница» г.Симферополя 2009-2011 гг. в возрасте 6-17лет. Группу контроля составили 15 практически здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу. По результатам исследований все пациенты были разделены на три группы: в 1-ю группу вошли 35( 53,85%) пациентов с хроническим Hp-ассоциированным гастритом в периоде обострения; 2-ю группу составили 17 (26,15%) пациентов с хроническим Hp-неассоциированным гастритом в периоде обострения; в 3-ю группу включены 13 ( 20%) пациентов с язвенной болезнью 12-ой кишки Hp-ассоци-

рованной в периоде обострения.

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включающее в себя анкетирование и клинический осмотр, фиброгастроуденоскопию (ФГДС) с прицельной биопсией слизистой оболочки антрального отдела желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки, с последующим гистологическим исследованием биоптатов по общепринятой методике с окраской гематоксилин-эозином. Выявление *Helicobacter pylori* проводили с помощью уреазного теста (CLO-тест).

Нами изучались в динамике маркеры апоптоза - количественное содержание CD-95 и Аннесин V во всех трех группах методом ИФА.

При проведении ИФА использовался комплект оборудования фирмы AWARENESS Technology Inc. (USA): промыватель планшет автоматический Stat Fax 2600, микропланшетный инкубатор-шейкер Stat Fax 2200 и иммуноферментный плащечный автоматический анализатор Stat Fax 2100.

Маркер sCD95 определялся наборами ИФА sCD 95(APO1/ Fas) ELISA KIT фирмы «DIACLONE Research» (Франция), предназначенными для количественного измерения «in vitro» растворимого CD95 (APO-1, Fas) в плазме, сыворотке, буферизованных растворах или среде культуры клеток. Фотометрирование лунок проводили на Stat Fax 2100 при длине волны 450 нм. Для перевода полученных результатов в единицах ОП измерения в ЕД/мл строили калибровочный график.

Для количественного определения Аннесина V

использован иммуноферментный набор Annexin V Elisa (кат. NBMS 252 производитель Bender Medsystems). После остановки ферментативной реакции проводили фотометрирование лунок на Stat Fax 2100 при длине волны 450 нм. Далее, с учетом значений оптической плотности контрольных проб, проводили математическую обработку результатов анализов.

Обследованным больным диагноз гастроуденальной патологии выставлялся согласно классификации МКБ10.

Проведилось лечение с учетом протоколов терапии по основному заболеванию.

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением интегрированного пакета прикладных программ Statistica 6.0 for Windows XP, в соответствии с общепринятыми методами медицинской статистики.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении обследования в клинической картине у детей всех трех групп преобладал болевой синдром (см. табл. 1). В первой группе боли носили интенсивный характер, возникали натощак или через 2 часа после еды, иногда ночью, но у 12 (34,3%) пациентов отмечались боли после приема пищи. Во второй группе боли так же носили голодный характер. В третьей группе, где болевой синдром был отмечен в 100% случаев, боли имели голодный характер, отмечались так называемые «ночные» боли, уменьшающиеся после приема пищи и щелочного питья.

Таблица 1

Клинико-эндоскопическая картина поражения слизистой гастроуденальной зоны

Признаки или синдромы	Группы пациентов		
	хронический Нр-ассоциированный гастрит (n=35)	хронический Нр- не ассоциированный гастрит (n=17)	язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки Нр-ассоциированная (n=13)
<b>Клиническая картина</b>			
1. болевой синдром	32 (91,4%)	15(88,2%)	13(100,0%)
2. диспептический синдром	19 (54,3%)	11 (64,7%)	12 (92,3%)
3. астено-вегетативный синдром	35 (100,0%)	17 (100,0%)	13 (100,0%)
<b>Эндоскопическая картина</b>			
хронический гастрит			
- эритематозный	29 (82,8%)	17 (100,0%)	
- нодулярный	1 (2,9%)		
-эрозивный	3 (8,5%)		
-атрофический	1(2,9%)		
-смешанный	1(2,9%)		
язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки			
- свежая			12 (92,3%)
-начало эпителизации			1 (7,7%)

Диспептический синдром проявлялся в виде рвоты, изжоги, тошноты, снижения аппетита, поноса,

запоров. Наибольший процент (до 92,3%) диспептический синдром отмечался при язвенной болезни

двенадцатиперстной кишки. Астено-вегетативный синдром в виде вялости, утомляемости отмечался во всех трех группах, в 100% случаев.

Эндоскопическая картина соответствовала клиническим данным. При хроническом Нр ассоциированном гастрите преобладал эритематозный тип эндоскопической картины в 82,8% случаев и в 8,5% слу-

чаев отмечался эрозивный тип. Эритематозный тип в 100% случаев наблюдался при хроническом Нр не ассоциированном гастрите. В группе с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки у 12 (92,3%) пациентов наблюдалась свежая язва.

При исследовании маркера апоптоза sCD 95 нами получены следующие результаты (см. табл. 2).

Таблица 2

**Характеристика показателя sCD 95 (пг/мл) у детей с гастроудоденальной патологией на этапе стационарного лечения (M ± m)**

Этап исследования	Контроль - ная группа (n=15)	1-я группа хронический Нр-ассоциированный гастрит (n=35)	2-я группа хронический Нр-не ассоциированный гастрит (n=17)	3-я группа язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки Нр-ассоциированная (n=13)
При поступлении	400,67 ± 4,05	553,29 ± 9,98 P<0,01	539,41 ± 6,83 P<0,001 P1>0,05	638,08 ± 9,05 P<0,001 P1<0,001 P2<0,001
При выписке		433,57 ± 6,22 P<0,01 P3<0,001	437,35 ± 6,57 P<0,01	479,23 ± 9,28 P<0,01 P3<0,01

Примечание: P- достоверные различия с аналогичными показателями контроля

P1-достоверные различия с аналогичными показателями 1 группы

P2-достоверные различия с аналогичными показателями 2 группы

P3-достоверные различия с аналогичными показателями до лечения

У всех обследуемых больных отмечалось достоверное повышение показателя sCD 95 в сравнении с группой контроля. Так же мы отмечали достоверно более высокие показатели sCD 95 у детей с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в сравнении с детьми 1 и 2 группы (P<0,001).

Кроме этого нами не обнаружено достоверных различий в показателях sCD 95 у детей с хроническим Нр - неассоциированным гастрите и хроническим Нр - ассоциированным гастрите. При исследовании уровня Аннексина V (см. табл.3) нами также обнаружено увеличение данного показателя практически в два раза у всех больных в сравнении с группой контроля (P<0,001).

Так же как и при исследовании sCD 95 нами не обнаружено достоверных различий в показателях Аннексина V в группе детей с хроническим гастритом в зависимости от наличия Нр- ассоциированной инфекции. Кроме этого нами получены более высокие результаты Аннексина V у детей с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в

сравнении с детьми имеющими хронический гастрит (p< 0,01; p< 0,05).

После проведенного лечения, которое проявлялось в уменьшении уровня sCD 95 и Аннексина V у детей всех групп (p3<0,001); однако показатели еще остаются достоверно выше данных контрольной группы.

У детей, имеющих деструктивные процессы в слизистой, наблюдались более высокие уровни sCD 95 и Аннексина V.

Полученные нами данные по апоптозу после проведенного лечения коррелировали с клинической картиной заболевания, так у 63 (96,9%) пациентов наблюдалось исчезновение болевого синдрома, у 60 (92,3%) пациентов отмечалось исчезновение признаков диспептического синдрома.

#### ВЫВОДЫ

1. У детей с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки имеет место усиление процессов апоптоза в сравнении с груп-

Таблица 3

Характеристика показателя Аннесина V (U/мл) у детей с гастродуоденальной патологией на этапе стационарного лечения (M ± m)

Этап исследования	Контрольная группа (n=15)	1-я группа хронический Нр-ассоциированный гастрит (n=35)	2-я группа хронический Нр-не ассоциированный гастрит (n=17)	3-я группа язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки Нр-ассоциированная (n=13)
при поступлении	6,25 ± 0,44	12,37 ± 0,55 P<0,001	14,11 ± 0,71 P<0,001 P1>0,05	16,98 ± 1,01 P<0,001 P1<0,01 P2<0,05
при выписке		8,09 ± 0,37 P<0,01 P3<0,001	7,66 ± 0,32 P<0,05 P3<0,001	9,08 ± 0,62 P<0,01 P3<0,001

Примечание: P- достоверные различия с аналогичными показателями контроля

P1-достоверные различия с аналогичными показателями 1 группы

P2-достоверные различия с аналогичными показателями 2 группы

P3-достоверные различия с аналогичными показателями до лечения

пой здоровых детей, более выраженное у пациентов с деструктивными изменениями в слизистой гастродуоденальной зоны.

2. В результате лечебных мероприятий наблюдается уменьшение уровня sCD 95 и Аннесина V у детей всех групп, подтверждающее снижение активности апоптоза и косвенно свидетельствующее об усилении репаративных процессов в слизистой гастродуоденальной зоны, что подтверждается исчезновением жалоб и улучшением клинической картины.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шарапова В.И. Мониторинг населения : состояние и задачи по повышению его эффективности / В.И.Шарапова, А.Д. Царегородцев, Б.А. Кабринский, Я.В. Воропаева // Рос. вест. перинатологии и педиатрии. 2009.;4; С. 4-10

2. Ивашкин В.Т. Процессы апоптоза и пролиферации при патологии желудочно-кишечного тракта и печени / В.Т.Ивашкин, Т.Л. Лапина, А.О. Бондаренко,

А.М. Буеверов, А.М. Осадчук, Е.А. Коган, О.А. Склянская, Е.Ю. Москалева, Е.В. Дмитриева, С.Е. Северин, И.М. Креветный // РЖГГК. 2002.; 6; С 38-43

3. Арин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения / Л.И. Арин // Клини. Мед. – 2000. – Т.78, №1. – С. 5-10

4. Белушкина Н.Н. Молекулярные основы патологии апоптоза / Н.Н. Белушкина, С.Е. Северин // Арх. Пат. – 2001. - №1. С. 51-60

5. Белушкина Н.Н. Молекулярные основы апоптоза / Н.Н. Белушкина, Хасан Хамад Али, С.Е. Северин // Вопр. биол. мед. и фарм. химии. – 1998. - №4. –С. 15-23

6. Барышников А.Ю. Иммунологические проблемы апоптоза/ А.Ю. Барышников, Ю.В. Шишкин / М. : Эдиториал УРСС, 2002

7. Amous D. Antiphospholipid antibodies : clinical significance and biological diagnosis/ D. Amous, B. Bontiere, M. Sanmarco // Ann.Biol.Clin. (Paris) – 2000 – Vol. 58-№5-P. 557-574.