

Стан системи оксиду азоту під час шлунково-кишкових кровотеч у дітей із виразковою хворобою



С.О. Сокольник

Буковинський державний медичний університет,
Чернівці

Мета роботи — оцінити показники системи оксиду азоту під час шлунково-кишкових кровотеч у дітей із виразковою хворобою шлунка та дванадцятипалої кишки.

Матеріали та методи. Обстежено 56 дітей, хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки, віком від 7 до 18 років, із них 24 дитини з шлунково-кишковою кровотечею, та 40 здорових осіб відповідного віку. Концентрацію метаболітів оксиду азоту у сироватці крові визначали спектрофотометрично за методикою П.П. Голікова.

Результати та обговорення. У дітей із виразковою хворобою, ускладненою кровотечею, спостерігали вірогідне підвищення концентрації оксиду азоту в сироватці крові порівняно з хворими на неускладнену виразкову хворобу та здоровими. Найвищі показники концентрації метаболітів оксиду азоту зареєстровано в дітей із активною шлунково-кишковою кровотечею на 1-у добу її виникнення та за наявності гелікобактерної інфекції.

Висновки. Рівень метаболітів оксиду азоту у сироватці крові в дітей із шлунково-кишковою кровотечею при виразковій хворобі належить до важливих прогностичних критеріїв перебігу захворювання.

Ключові слова: діти, шлунково-кишкова кровотеча, виразкова хвороба, оксид азоту.

Упродовж останніх десятиліть помічено зростання частоти шлунково-кишкових кровотеч (ШКК) у дітей із виразковою хворобою (ВХ) шлунка та дванадцятипалої кишки. Така несприятлива динаміка розвитку ШКК спонукає до всебічного вивчення та наукового обґрунтування основних аспектів їх розвитку.

Останнім часом у патогенезі різних захворювань, зокрема шлунково-кишкового тракту (ШКТ), науковці приділяють велику увагу оксиду азоту (NO) — універсальному біорегулятору широкого спектра дії, що контролює багато біохімічних процесів [4]. NO розглядають як першого представника нового класу сигнальних молекул, які здійснюють міжклітинну комунікацію та регуляцію багатьох функцій у різних тканинах та системах організму [6]. NO належить до медіаторів неспецифічного захисту слизової оболонки (СО) шлунка, регулює моторику ШКТ, шлункову секрецію, мікроциркуляцію,

Стаття надійшла до редакції 14 липня 2014 р.

Сокольник Сергій Олександрович, к. мед. н., доцент кафедри дитячої хірургії та отоларингології
58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Тел. (0372) 55-37-54
E-mail: sers-doc@mail.ru

а за фізіологічних умов ще й володіє цитопротективною дією [1, 2].

Основне місце утворення активних сполук азоту — це ШКТ. Так, NO-синтаза (NOS) у значній кількості міститься в тканинах кишечника, NO утворюється також у просвіті кишечника та на поверхні СО [3]. Доведено, що негативна дія NO починає виявлятися під час різкого зниження або зростання його сумарної концентрації, що призводить до функціонального та структурного ушкодження органа [5].

Використання інгібіторів NOS довело, що NO відіграє роль у кровопостачанні СО шлунка в стані спокою, а також є потужним ендogenousним вазодилататором у відповідь на пентагастрин або зворотню дифузію H^+ , що сповільнює ріст судинних гладеньком'язових клітин та агрегацію тромбоцитів, адгезію нейтрофілів до ендотелію [4].

Тому вивчення концентрації метаболітів NO в сироватці крові під час ШКК у дітей, хворих на ВХ, перспективне. Воно дасть змогу уточнити патогенетичні особливості розвитку та клінічні особливості перебігу ШКК при ВХ, а також обґрунтувати методи лікування.

Мета роботи — оцінити показники системи оксиду азоту під час шлунково-кишкових кровотеч у дітей, хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки.

Матеріали та методи

Обстежено 56 дітей, хворих на ВХ шлунка та дванадцятипалої кишки, віком 7—18 років. Із них у 24 пацієнтів, що перебували на стаціонарному лікуванні в хірургічному та гастроентерологічному відділеннях КМУ «Міська дитяча клінічна лікарня» м. Чернівці, діагностовано ВХ, ускладнену кровотечею. Також обстежено 40 здорових осіб відповідного віку (після підписання індивідуальної інформованої згоди на участь у дослідженнях). Статеві-вікової різниці серед обстежених дітей не визначено ($p < 0,05$).

Критерії залучення пацієнта у дослідження: інформована згода на проведення досліджень; місце проживання (м. Чернівці); вік (7—18 років); наявність ускладненої ШКК або неускладненої виразки. Критерії вилучення пацієнта з дослідження: участь в інших дослідженнях; наявність хронічної супутньої патології, що може вплинути на результати досліджень; шкідливі звички; вживання антисекреторних або антибактеріальних препаратів упродовж останнього місяця. Критерії виходу пацієнта з дослідження: рішення хворого припинити свою участь у дослідженнях; недотримання пацієнтом рекомендацій лікаря; поява у процесі дослідження критеріїв вилучення.

Верифікацію діагнозу виразкової хвороби та наявність ШКК з виразки проводили з використанням езофагогастроуденоскопії (гастрофіброскоп Fujinon FG-1Z) з біопсією СО шлунка та дванадцятипалої кишки за загальноприйнятими правилами забору з подальшим приготуванням

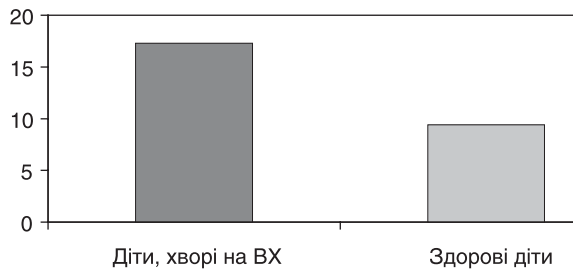
мазка-відбитка, прокрашуванням азур-еозином та бактеріоскопією з метою діагностики *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Інфікування *H. pylori* підтверджували також шляхом визначення специфічних імуноглобулінів класів М, А та G до антигену CagA *H. pylori* у сироватці крові з використанням діагностичної тест-системи «ХелікоБест-антигіла» (набір реактивів «Вектор БЕСТ» (м. Новосибірськ, Росія)) та концентрації антигену CagA *H. pylori* в калі (набір реактивів Farmasco (Швеція)) імунферментним методом за загальноприйнятою методикою (імунферментний аналізатор UBI MAYIWELL™, США). *H. pylori* діагностовано у 92,8 % дітей, хворих на ВХ. Ультразвукове дослідження органів черевної порожнини проводили з метою скринінг-діагностики супутньої патології, наявність якої була критерієм вилучення дитини з дослідження.

Кров для визначення рівня метаболітів NO брали з ліктьової вени вранці натще. Концентрацію нітриту у крові визначали за допомогою стандарту (за П.П. Голиковим та співат., 1986). Відновлення нітрату в нітрит у пробах проводили за допомогою гранульованого кадмію (масова частка гранульованого кадмію > 99,96 %), аліквоти якого додавали до центрифугату, і проводили інкубування за кімнатної температури протягом 15 год. Попередньо гранули кадмію промивали бідистильованою водою 0,1 N HCl та знову бідистильованою водою до нейтрального середовища. Параметри повноти відновлення гранулами кадмію, доданого в проби відновлення нітрату в нітрит, визначали за допомогою концентраційної залежності нітриту, верифікованого за допомогою реакції Грісса. Отриману суміш змішували з рівним об'ємом реактиву Грісса та інкубували 10 хв за кімнатної температури. Вимірювання абсорбції розчину здійснювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 546 нм. Отриманий результат зіставляли з калібровочною кривою для визначення рівня нітрат/нітрит, яка є лінійною в діапазоні концентрацій від 2,1 до 300 мкмоль/л. Рівень NO визначали за формулою: $C(NO) = 227,273 \times E \times K$, де E — дані, отримані згідно із зіставленням, із калібровочною кривою. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета комп'ютерних програм Statistica 6.0.

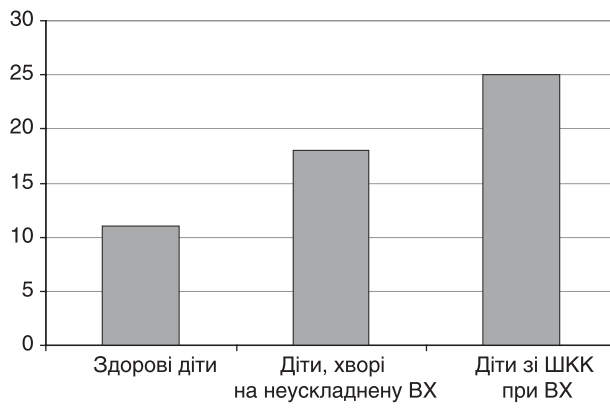
Результати та обговорення

Визначено концентрацію метаболітів NO у сироватці крові в дітей, хворих на ВХ, неускладнену та ускладнену ШКК, та здорових осіб. Помічено, що в цілому у хворих концентрація метаболітів ендogenousного NO у сироватці крові ((17,3 ± 0,05) мкмоль/л) була вищою у 1,8 разу та вірогідно відрізнялася ($p < 0,05$) від такої у здорових (рис. 1).

За наявності ШКК у дітей, хворих на ВХ, концентрація NO підвищувалася в середньому до (23,61 ± 0,05) мкмоль/л, що вірогідно вище як за показник у здорових дітей ((9,42 ± 0,03) мкмоль/л;



■ **Рис. 1.** Концентрація NO у сироватці крові здорових та хворих на виразкову хворобу дітей, мкмоль/л



■ **Рис. 2.** Концентрація метаболітів NO у сироватці крові дітей, хворих на виразкову хворобу, залежно від наявності шлунково-кишкової кровотечі, мкмоль/л

Таблиця

Концентрація метаболітів NO у сироватці крові дітей, хворих на виразкову хворобу, ускладнену шлунково-кишковою кровотечею (M±m), мкмоль/л

Здорові діти (n = 40)	Діти з ШКК при ВХ (n = 24)		
	Доба спостереження після кровотечі		
	1 доба	4 доба	7 доба
9,42 ± 0,03	23,61 ± 0,05	20,23 ± 0,04	16,02 ± 0,04*

Примітка. *Різниця щодо концентрації NO у дітей із ШКК на 1-у добу вірогідна (p < 0,05).

p < 0,05), так і за показник у хворих осіб із неускладненим перебігом захворювання (p < 0,05).

Здійснено аналіз концентрації NO у сироватці крові хворих із ШКК при ВХ залежно від доби спостереження після кровотечі. Помічено зростання у більшості хворих концентрації NO на 1-у добу після виникнення ШКК та поступове зниження на 7-у добу (таблиця). У 5 пацієнтів на 7-у добу після виникнення ШКК не спостерігали істотного зниження концентрації NO (p > 0,05). Це були діти з раннім рецидивом кровотечі з виразки гастродуоденальної ділянки.

Унаслідок ендоскопічного дослідження дітей із ШКК за Forrest у 1 (4,2 %) хворого діагностовано тип F1A, у 2 (8,3 %) осіб — F1B, у 4 (16,7 %) дітей — F1A, у 7 (29,2 %) пацієнтів — F1B, у 5 (20,8 %) осіб — F1C та у 5 (20,8 %) хворих — F1D.

Виявлено різницю в концентрації NO у сироватці крові дітей із ШКК залежно від типу кровотечі за Forrest. Найвищі показники діагностовано в дітей із F1A (31,56 мкмоль/л), F1B ((29,12 ± 0,01) мкмоль/л) та F1A ((26,28 ± 0,04) мкмоль/л), дещо нижчі — в осіб із F1B ((24,62 ± 0,05) мкмоль/л). Вірогідно нижчий рівень NO у сироватці крові виявлено в дітей із F1C ((20,54 ± 0,06) мкмоль/л) та F1D ((19,32 ± 0,05) мкмоль/л).

Визначено позитивний вірогідний кореляційний зв'язок між концентрацією NO в сироватці крові дітей із ШКК та активністю кровотечі (r = 0,86; p < 0,01). Отже, концентрація NO у сироватці крові хворих із ШКК значно вища під час активної кровотечі, ніж у випадку зупиненої.

Поряд із цим визначено тісний кореляційний зв'язок між показниками NO в сироватці крові дітей із ШКК та рівнем інфікування *H. pylori* (r = 0,78; p < 0,05). За наявності гелікобактерної інфекції концентрація метаболітів NO в дітей із ШКК при ВХ становила (28,94 ± 0,06) мкмоль/л (p < 0,05), що було у 1,6 разу вище за концентрацію в дітей із ШКК без *H. pylori* — (18,28 ± 0,04) мкмоль/л.

Виявлена різниця концентрації показників ендогенної продукції NO у дітей із ШКК залежно від інфікування *H. pylori* зумовлена низкою факторів, серед яких певне значення має збільшення активності індукцибельної NOS у випадку бактеріального інфікування у зв'язку із залученням активних макрофагів в осередок запалення, що призводить до підвищення рівня NO [2].

Висновки

У дітей зі шлунково-кишковою кровотечею при виразковій хворобі спостерігають істотне підвищення концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові порівняно з дітьми, хворими на неускладнену виразкову хворобу, та здоровими пацієнтами.

Визначено зв'язок змін концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові дітей зі шлунково-кишковою кровотечею з активністю кровотечі, часом спостереження, наявністю гелікобактерної інфекції. Найсуттєвіше підвищення рівня метаболітів оксиду азоту в сироватці крові спостерігали в дітей із типом кровотечі F1A, F1B, F1A та за наявності гелікобактерної інфекції.

Тривале збереження високої концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові хворих зі шлунково-кишковою кровотечею підвищує ризик її рецидиву.

Перспективи подальших досліджень — вивчити роль метаболітів оксиду азоту в роботі мікроциркуляторної ланки системи гемостазу в дітей, хворих на виразкову хворобу, ускладнену шлунково-кишковою кровотечею.

Література

1. Видманова Т.А., Жукова Е.А., Колесов С.А. Метаболиты оксида азота и эпидермальный фактор роста при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у детей и подростков // Педиатрия.— 2013.— № 6.— С. 11—15.
2. Ткач С.М., Пучков К.С., Кузенко Ю.Г. Биологические эффекты оксидов азота в желудочно-кишечном тракте // Сучасна гастроентерологія.— 2013.— № 4 (72).— С. 118—128.
3. Фролов И.А. Оксид азота как прогностический фактор при острых эрозивно-язвенных поражениях, осложненных кровотечением // Bulletin of Medical Internet Conferences.— 2011.— Vol. 1.— P. 84.
4. Lanás A., Garcha-Rodríguez L.A., Arroyo M.T. Investigators of the Asociaciyn Espacola de Gastroenterologna (AEG): Effect of antisecretorydrugs and nitrates on the risk of ulcer bleeding associatedwith nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, and anticoagulants // Am. J. Gastroenterol.— 2007.— Vol. 102.— P. 507—515.
5. Mehta V.B., Zhou Y., Radulescu A. HB-EGF stimulates eNOS expression and nitric oxide production and promotes eNOS dependent angiogenesis // Growth Factors.— 2008.— Vol. 26 (6).— P. 301—315.
6. Wallace J.L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research // Am. J. Med.— 2009.— Vol. 110 (1A).— P. 19—23.

Состояние системы оксида азота во время желудочно-кишечных кровотечений у детей с язвенной болезнью

С.А. Сокольник

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы

Цель работы — оценить показатели системы оксида азота во время желудочно-кишечных кровотечений у детей с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы. Обследовано 56 детей с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в возрасте от 7 до 18 лет, из которых 24 ребенка с желудочно-кишечным кровотечением, и 40 здоровых особ соответствующего возраста. Концентрацию метаболитов оксида азота в сыворотке крови определяли спектрофотометрически по методике П.П. Голикова.

Результаты и обсуждение. У детей с язвенной болезнью, осложненной кровотечением, наблюдали достоверное повышение концентрации метаболитов оксида азота в сыворотке крови в отличие от больных с неосложненной язвенной болезнью и здоровых. Самые высокие показатели концентрации метаболитов оксида азота зарегистрированы у детей с активным желудочно-кишечным кровотечением в первые сутки его возникновения и при наличии геликобактерной инфекции.

Выводы. Уровень метаболитов оксида азота в сыворотке крови у детей с желудочно-кишечным кровотечением при язвенной болезни является одним из важных прогностических критериев течения заболевания.

Ключевые слова: дети, желудочно-кишечное кровотечение, язвенная болезнь, оксид азота.

Nitric oxide system in children with peptic ulcer complicated by gastrointestinal bleeding

S.O. Sokolnyk

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi

The aim — to evaluate the nitric oxide indicators in children with peptic ulcer, duodenal ulcer complicated by gastrointestinal bleeding.

Material and methods. 56 children with gastric ulcer and duodenal ulcer, aged 7—18 years, 24 of which — with gastrointestinal bleeding and 40 — healthy individuals of appropriate age were examined. The concentration of nitric oxide in the blood was determined spectrophotometrically by the Golikov P.P. method.

Results and discussion. Children with high-risk bleeding peptic ulcer observed a significant increase in the nitric oxide metabolites blood concentration, in contrast to patients with uncomplicated peptic ulcer and healthy. The most high concentrations of nitric oxide metabolites were found in children with active gastrointestinal bleeding, on the first day of its occurrence and the presence of *Helicobacter pylori* infection.

Conclusions. The obtained results allow us to consider the level of nitric oxide in the blood of children with peptic ulcer complicated by gastrointestinal bleeding is one of the most important predictors of the disease.

Key words: children, gastrointestinal bleeding, peptic ulcer, nitric oxide.