

© І.В. Чопей, Т.М. Тернушак, А.М. Братасюк, 2011

УДК 616.34-007.17:616.348-002.44-03:616.351-006.6]-084:615.357.752

І.В. ЧОПЕЙ, Т.М. ТЕРНУЩАК, А.М. БРАТАСЮК

Ужгородський національний університет, факультет післядипломної освіти, кафедра терапії та сімейної медицини, Ужгород

## РОЛЬ 5-АМІНОСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ У ПРОФІЛАКТИЦІ ДИСПЛАЗІЙ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ПРИ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ ВИРАЗКОВОМУ КОЛІТІ

У даній статті досліджувався профілактичний вплив препаратів 5-аміносаліцилової кислоти на розвиток дисплазії слизової оболонки товстої кишки. Авторами приведені сучасні дані щодо молекулярних механізмів патогенетичного впливу 5-аміносаліцилової кислоти та нестероїдних протизапальних препаратів на розвиток вищевказаних процесів. Визначений відносний ризик розвитку диспластичних процесів товстої кишки при тривалому прийомі 5-аміносаліцилової кислоти у хворих на неспецифічний виразковий коліт.

**Ключові слова:** неспецифічний виразковий коліт, дисплазія, 5-аміносаліцилова кислота, нестероїдні протизапальні препарати

**Вступ.** Хворі із неспецифічним виразковим колітом (НВК) та хворобою Крона (ХК) мають підвищений ризик розвитку колоректального раку, якому передусє дисплазія [20]. З цієї причини таким хворим з профілактичною метою проводиться колоноскопія [13]. Через 7-8 років від початку хвороби зростає ризик розвитку аденокарциноми, який пов'язаний з тривалістю та анатомічною протяжністю хвороби, молодим особам на момент захворювання, обтяженим сімейним анамнезом з приводу колоректального раку, супутнім первинним склерозуючим холангітом, а останнім часом надають значення і ступеню запалення товстої кишки. Зокрема, після 10 років тривалості захворювання ризик складає 8%, після 20 років – 10-20%, а після більш ніж 30 років становить 30%. [3]. Хворі з панколітом мають вищий ризик, ніж з лівобічним колітом. Ризик розвитку диспластичних процесів при панколіті складає 15%, а при лівобічному коліті – не більше 5%.

Проведені численні клінічні дослідження (Lindberg 2001, Eaden 2001, Bernstein 2003, Van Staa 2003, Rutter 2004, Rubin 2006), де оцінювався профілактичний вплив 5-аміносаліцилової кислоти (5-АСК) на розвиток дисплазії і раку товстої кишки у пацієнтів із НВК та ХК. У нещодавньому мета-аналізі 9 досліджень НВК, за участю 1932 пацієнтів, виявлений зв'язок між прийомом 5-АСК і розвитком колоректального раку (95%, довірчий інтервал 0,37-0,69) або дисплазії (95%, довірчий інтервал 0,38-0,69)[2,9,12], який показує 49%-відсоткове зниження ризику колоректального раку або дисплазії при регулярному використанні 5-АСК. В цілому інші дослідження повідомляли про аналогічні результати. Хоча проведені численні дослідження підтвердили профілактичну роль 5-АСК щодо розвитку дисплазії у пацієнтів з запальними захворюваннями кишки, залишається менш відомим, яким чином здійснюється цей вплив.

Клінічна ефективність 5-АСК при запальних захворюваннях кишки імовірно обумовлена місцевою протизапальною дією. Тим не менш, механіз-

ми протизапальної дії 5-АСК повністю не з'ясовані. Запропоновані механізми включають модуляцію вироблення запальних цитокінів [3], інгібування циклооксигенази (ЦОГ; регулює процес запалення і проліферацію клітин через утворення простагландинів) [10], інгібування синтезу оксиду азоту (важливий заключний ефектор пошкодження слизової) [5, 26], гальмування ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  (фактор транскрипції, відповідальний за експресію багатьох генів, що беруть участь в запальній реакції і сприянні канцерогенезу через блокаду апоптозу) [14, 17], активацію пероксисомального проліферативного активатора рецептора –  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$  – ядерний рецептор, що у великій кількості представлений в товстій кишці і відіграє ключову роль у бактеріальній індукції запалення) [16,] та антимікробну дію [18] (рис.1).

Хоча ці механізми лежать в основі протизапальної дії 5-АСК, деякі з них також можуть сприяти профілактичному ефекту. Наприклад, активація PPAR- $\gamma$ , яка вперше була описана в роботі Rousseaux та інших [16], може бути доречною щодо профілактики колоректального раку, оскільки PPAR- $\gamma$  бере участь у багатьох важливих клітинних процесах, в тому числі контролі клітинного циклу та апоптозу [15]. Крім того, 5-АСК показала пригнічення Wnt/ $\beta$ -катенінового шляху в онкоклітинах через інгібування білка – фосфатази 2A [27]. Активація цього патологічного шляху, в основному через мутацію специфічного гену (Apc), спостерігається в більшості онкоклітин. Сьогодні прийнято вважати, що пригнічення патологічної активності Wnt/ $\beta$ -катеніну має важливе значення щодо раннього розвитку колоректального раку.

Таким чином, будь-яке пригнічення патологічної активності Wnt/ $\beta$ -катеніну, ймовірно, слугуватиме захистом проти колоректального раку. Крім впливу на Wnt/ $\beta$ -катеніновий шлях, 5-АСК також пошкоджує сигнальний рецептор епідермального фактора росту (EGFR) – патологічний шлях, який активує мітогенну сигналізацію в онкоклітинах шляхом підвищення активності ферменту, що фосфорилює EGFR і тим самим інактивує рецептор [19].

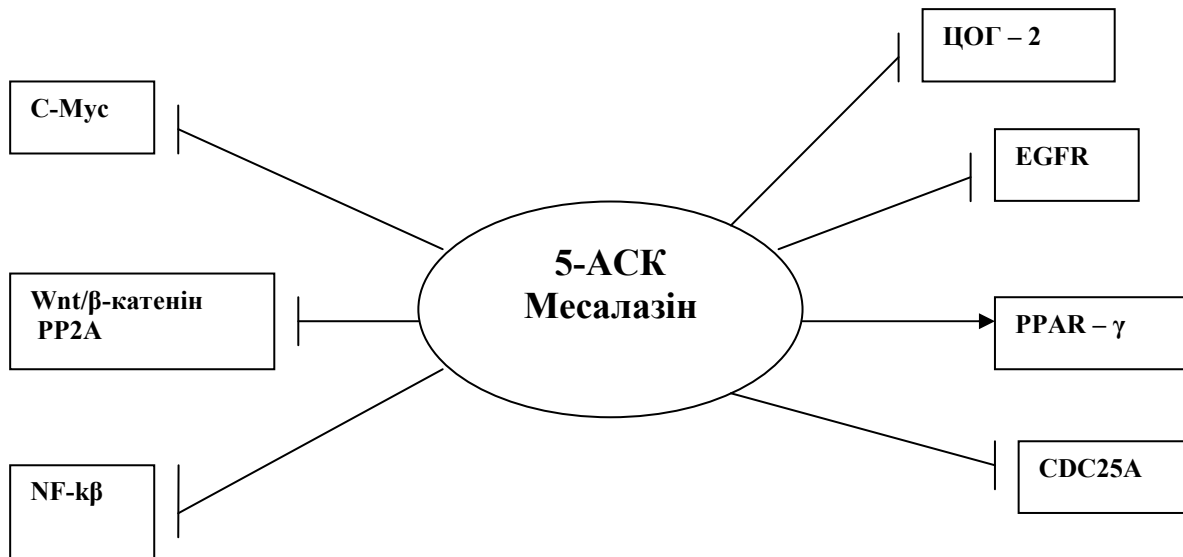


Рис. 1. Молекулярні шляхи впливу 5-аміносаліцилової кислоти (Месалазін) на профілактику диспластичних процесів. С-Мус – протоонкоген, Wnt/β катенін – сигнальний шлях клітини, що регулює ембріогенез, диференціювання тканин та розвиток ракових клітин, NF-κβ – ядерний транскрипційний фактор, PP2A – протеїнфосфатаза 2A, ЦОГ – 2 – циклооксигеназа-2, EGFR – рецептор епідермального фактора росту, PPAR – γ – γ рецептори, які активують проліферацію пероксисом., CDC25A – кластерний протеїн, що контролює цикл клітин.

В експериментальних дослідженнях показано, що 5-АСК інгібує ядерний транскрипційний фактор (NF-κβ) в макрофагах слизової оболонки хворих НБК [1]. Крім того, 5-АСК інгібує активацію NF-κβ, стимульовану фактором некрозу пухлин (ФНП-α) і ядерну транслокацію в епітеліальних клітинах слизової оболонки товстої кишки мишей [11], так само, як інгібує транскрипційну активність NF-κB, індуковану інтерлейкіном-1 (IL)-1 або форболу міростатацетату у культурах клітин колоректальної карциноми [8].

Додаткові дослідження *in vitro* показали, що 5-АСК може також впливати на прогресію клітинного циклу, сповільнюючи швидкість реплікації (незачіпаючи полімеризації мікроканальців чи веретеноподібної орієнтації) [7] і активуючи в середині інтерфазу клітинного циклу контрольно-пропускні пункти, які блокують реплікацію хромосом [22]. Нещодавно підтверджено, що 5- АСК блокує цикл клітин аденокарциноми в S-періоді клітинного циклу і цей ефект пов'язаний із пригніченням експресії фосфатази кластерного протеїну (CDC25A) та інактивацією цикліну гена CDK2. [25]. Ген CDK2 контролює S період клітинного циклу, оскільки він може зв'язуватися або з цикліном E, або цикліном A і регулювати G1/S перехідний період клітинного циклу та прогресію S періоду, відповідно. Цей супресивний вплив 5-АСК на кластерний протеїн CDC25A специфічний, оскільки у клітинах аденокарциноми не спостерігається будь-якої зміни підтипів кластерних протеїнів CDC25, а саме CDC25B і CDC25C. Патогенетичний шлях, що призводить до гальмування CDC25A в клітинах колоректального раку під впливом 5- АСК, залишається не до кінця вивченим.

Крім того, попередні дані клітинної лінії колоректального раку припускають, що 5-АСК може протидіяти, обумовленому запальним процесом, канцерогенезу шляхом деметилування транскрипції пухлиносупресорних генів [24]. Процес метилування С-Мус ділянки був визначений як механізм канцерогенезу товстої кишки не тільки при НБК, але і в спорадичних випадках колоректального раку [1, 11].

Зрозуміло, що необхідні подальші дослідження для визначення, в якій мірі ці різні ефекти 5-АСК відіграють роль у профілактиці.

**Механізми профілактичного впливу не стероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) на розвиток дисплазії слизової оболонки товстої кишки.**

Вважається, що зменшення ризику розвитку колоректальної дисплазії НПЗП в основному пов'язане з гальмуванням циклооксигенази (ЦОГ), зокрема, ЦОГ-2, що має місце при колоректальній неоплазії [9]. На сьогодні відомі й інші механізми впливу НПЗП, зокрема на активність онкогенного Wnt/β-катенінового шляху в культурі клітин колоректального раку [28]. Наприклад, продемонстровано методом імуноблотингу дозозалежне зменшення активності цього шляху, якщо оцінювати за активністю люциферази, індукованої T- клітинним фактором, пригнічення експресії Wnt гена і посилення процесів фосфорилування β-катеніну [4]. У нещодавніх дослідженнях продемонстровано, що НПЗП посилюють процеси фосфорилування протеїнфосфатази 2A (PP2A), таким чином вони пригнічують ферментативну активність PP2A [6]. Результати цих клінічних досліджень відкривають нові молекулярні механізми ефективності НПЗП щодо профілактики колоректальної дисплазії.

**Мета дослідження.** Оцінити вплив прийому препаратів 5-АСК у пацієнтів із НВК на розвиток диспластичних процесів слизової оболонки товстої кишки.

**Матеріали та методи.** З 2005 по 2010 роки обстежено 30 хворих НВК, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в Ужгородській міській клінічній лікарні та відділковій клінічній лікарні ст. Ужгород. Критеріями включення пацієнтів, до основної групи були: діагностований НВК з тривалим анамнезом захворювання (> 5) років, тривалий прийом препаратів 5-АСК, обтяжений сімейний анамнез щодо розвитку колоректального раку.

Критеріями виключення була наявність ускладнень КШК, а саме: перфорація кишки, непрохідність кишківника, токсична дилатація кишки та гостра кишкова кровотеча.

Групу порівняння склали 32 хворих із остеохондрозом хребта, які протягом тривалого часу приймали нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП). Усім пацієнтам проводилася скринінгова колоноскопія з біопсією.

Обробку числових даних виконували із застосуванням електронних таблиць Excel 2003 for Windows з визначенням критерію Стьюдента (t), статистичної достовірності (p), коефіцієнту кореляції (r). Різниця показників вважалася вірогідною при  $p < 0,05$ . Для порівняння якісних ознак у малих групах використовувався критерій Фішера (P).

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами досліджень середній вік хворих із вперше діагностованим неспецифічним виразковим колітом складав  $34 \pm 16$  (M $\pm$ m) років (min=18; max =53). Найчастіше НВК виявлявся у віковій групі 28 років (73%). Середня тривалість захворювання неспецифічним виразковим колітом складала  $16 \pm 5$  (M $\pm$ m) років (min= 5; max =26).

Згідно з результатами проведеної скринінгової колоноскопії з біопсією дисплазію слизової оболонки товстої кишки діагностували у 18 (29%) хворих. З них – 11 випадків в основній групі та 7 – в групі порівняння ( $p < 0,05$ ) (рис.2).

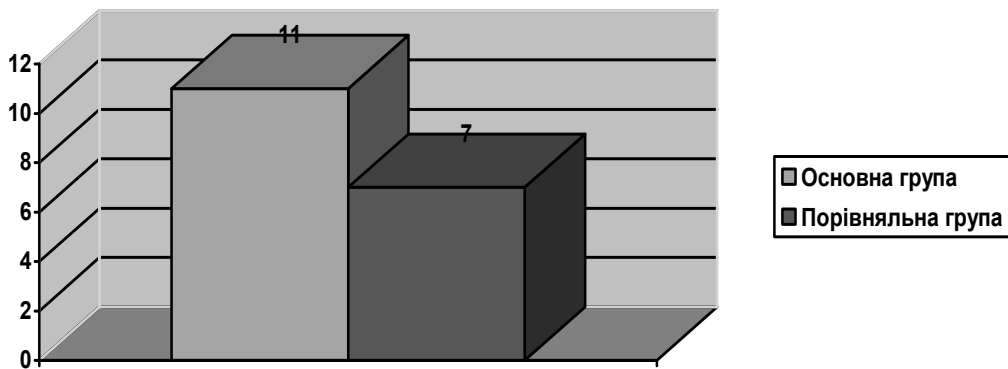


Рис. 2. Кількість виявлених дисплазій слизової оболонки товстої кишки у пацієнтів основної та порівняльної груп.

Отже, відносний ризик розвитку диспластичних процесів при постійному прийомі препаратів 5-аміносаліцилової кислоти складає 0,40, тоді як при прийомі нестероїдних протизапальних препаратів – 0,34.

Нами виявлений прямий кореляційний зв'язок між тривалістю захворювання НВК та частотою

розвитку дисплазій ( $r = 1,4$ ). При тривалості захворювання НВК від 5 до 10 років диспластичний процес діагностувався лише в одного хворого, тоді як при тривалості НВК 10-15 років – у 3 хворих і при тривалості > 15 років – у 7 хворих (рис.3).

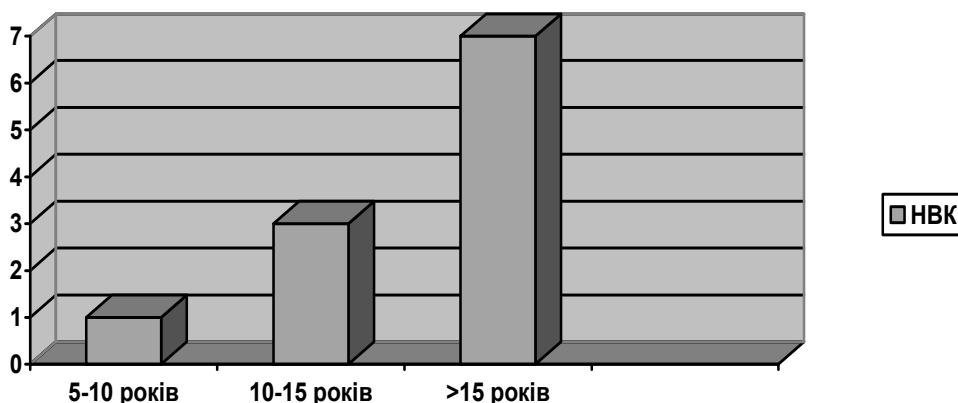


Рис. 3. Частота виявлення дисплазій слизової оболонки товстої кишки у хворих НВК залежно від тривалості захворювання.

Проведений аналіз частоти розвитку дисплазії слизової оболонки товстої кишки в залежності від анатомічної форми НВК. В основній групі діагностований лівосторонній коліт у 21 (70%) хворого та

у 9 (30%) – панколіт. У 4 хворих із лівостороннім колітом виявлена поліповидна дисплазія сигмовидної кишки і у 7 хворих із тотальним колітом – пласка дисплазія кишки ( $p < 0,005$ ) (рис.4).

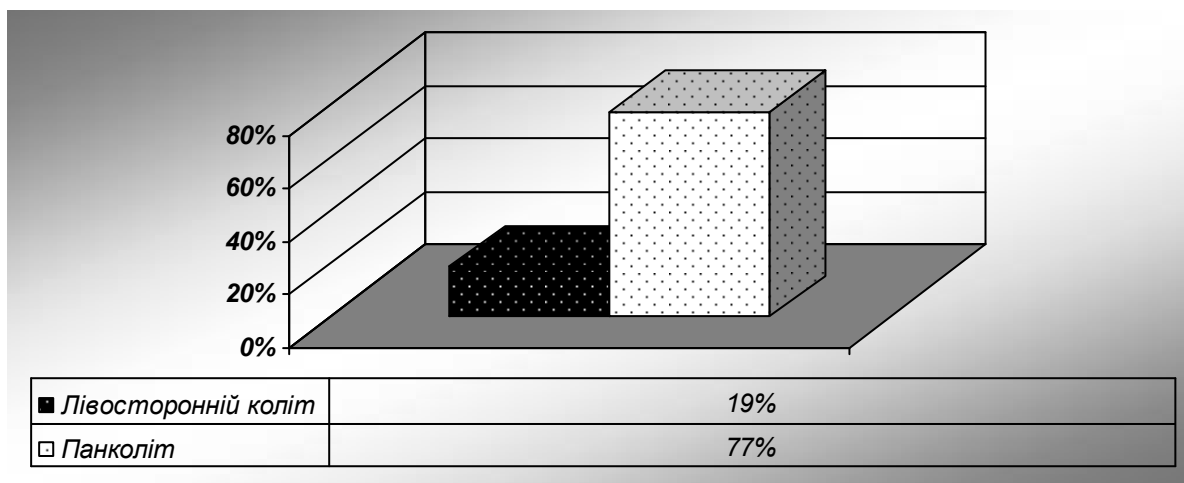


Рис. 4. Частота виявлення дисплазій слизової оболонки товстої кишки у хворих НВК залежно від анатомічної форми захворювання.

Частота розвитку диспластичних процесів при обмеженому коліті складала 19%, тоді як при обширному – 77%. Таким чином, при панколіті у 4 рази зростає ризик розвитку дисплазії товстої кишки.

**Висновки.**

1. Відносний ризик розвитку диспластичних процесів слизової оболонки товстої кишки при постійному прийомі препаратів 5-

аміносаліцилової кислоти дещо вищий, ніж при прийомі нестероїдних протизапальних препаратів.

2. Виявлений прямий кореляційний зв'язок між тривалістю захворювання на неспецифічний виразковий коліт та частотою розвитку дисплазій.

3. Частота розвитку дисплазії товстої кишки зростає у 4 рази при обширному коліті.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Bantel H. Mesalazine inhibits activation of transcription factor NF- $\kappa$ B in inflamed mucosa of patients with ulcerative colitis / H. Bantel, C. Berg, M. Vieth, M. Stolte, [et al.] // *Am J Gastroenterol.* — 2000. — Vol. 95. — P. 3452—3457.
2. Behrens J. The Wnt connection to tumorigenesis / J. Behrens // *Int J Dev Biol.* — 2004. — Vol. 48. — P. 477—487.
3. Bos C.L. Protein P 2A is required for mesalazinedependent inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway activity / C.L. Bos, S.H. Diks, J.C. Hardwick, K.V. Walburg // *Carcin.* — 2006. — Vol. 27. — P. 2371—2382.
4. Bos C.L. Effect of aspirin on the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway is mediated via protein P2A / C.L. Bos, L.L. Kodach, G.R. van den Brink, S.H. Diks // *Oncogene.* — 2006. — Vol. 25. — P.6447—6456.
5. Bradley S.J. Increased expression of the epidermal growth factor receptor on human colon carcinoma cells / S.J. Bradley, G. Garfinkle, E. Walker, R. Salem // *Arch Surg.* — 2006. — Vol.121. — P.1242—1247.
6. Desreumaux P. Review article: mode of action and delivery of 5-aminosalicylic acid — new evidence / P. Desreumaux, S. Ghosh // *Aliment Pharmacol Ther.* — 2006. — Vol. 24 (Suppl 1). — P. 2—9.
7. Eaden J. Review article: colorectal carcinoma and inflammatory bowel disease // *Aliment Pharmacol Ther.* — 2004. — Vol.20. — P. 24 — 30.
8. Egan L.J. Inhibition of interleukin-1-stimulated NF- $\kappa$ B RelA/p65 phosphorylation by mesalamine is accompanied by decreased transcriptional activity / L.J. Egan, D.C. Mays, C.J. Huntoon, [et al.] // *J Biol. Chem.* — 2008. — Vol. 274. — P. 26448 — 26453.
9. Gasche C. Mesalazine improves replication fidelity in cultured colorectal cells / C. Gasche, A. Goel, L. Natarajan, C.R. Boland // *Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65. — P. 3993—3997.
10. Jorissen R.N. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling / R.N. Jorissen, F. Walker, N. Pouliot, T.P. Garrett, C.W. Ward // *Exp Cell Res.* — 2003. — Vol.284. — P. 31 — 53.
11. Kaiser G.C. Mesalamine blocks TNF growth inhibition and nuclear factor  $\kappa$ B activation in mouse colonocytes / G.C. Kaiser, F. Yan, D.B. Polk // *Gastroenterology.* — 2010. — Vol.116. — P. 602—609.
12. Koehne C.H. COX-2 inhibition and colorectal cancer / C.H. Koehne, R.N. Dubois // *Semin Oncol.* — 2004. — Vol. 31. — P. 12 — 21.
13. Mann B. Target genes of beta-catenin-T cell-factor/lymphoid-enhancer-factor signaling in human colorectal carcinomas / B. Mann, M. Gelos [ et al ] // *Proc Natl Acad Sc.* — 2009. — Vol.96. — P.1603 —1608.
14. Martin E.S. Common and distinct genomic events in sporadic colorectal cancer and diverse cancer types / E.S. Martin, G. Tonon, R. Sinha [et al.] // *Cancer Res.* — 2007. — Vol. 67. — P. 10736 — 10743.

15. Matthiessen M.W. Peroxisome proliferator—activated receptor expression and activation in normal human colonic epithelial cells and tubular adenomas / M.W. Matthiessen, G. Pedersen, T. Albrektsen, S. Adamsen,, J. Fleckner, J. Brynskov // *Scand J Gastroenterol.* — 2005. — Vol.40. — P.198 — 205.
16. Mendelsohn J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy / J. Mendelsohn, J. Baselga // *Oncogene.* — 2001. — Vol.19. — P.6550 — 6565.
17. Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy / J. Mendelsohn // *Endocr Relat Cancer.* — 2001. — Vol. 8. — P.3 — 9.
18. Monteleone G. Silencing of SH-PTP2 defines a crucial role in the inactivation of epidermal growth factor receptor by 5-aminosalicylic acid in colon cancer cells / G. Monteleone, L. Franchi, D. Fina [et al.] // *Cell Death Differ.* — 2006. — Vol. 13. — P. 202 — 211.
19. Osawa E. Peroxisome proliferatoractivated receptor  $\gamma$  ligands suppress colon carcinogenesis induced by azoxymethane in mice / E. Osawa, A. Nakajima, K. Wada [et al.] // *Gastro.* — 2003. — Vol. 124. — P. 361 — 367.
20. Ponzelli R. Cancer therapeutics: targeting the dark side of Myc / R. Ponzelli, S. Katz, D. Barsyte-Lovejoy, L.Z. Penn // *Eur J Cancer.* — 2005. — Vol.16. — P. 2485 —2501.
21. Rousseaux C. Intestinal anti-inflammatory effect of 5—ASA is dependent on peroxisome proliferator—activated receptor- $\gamma$  / C. Rousseaux, B. Lefebvre, [et al.] // *J.Med.* — 2005.— Vol.201. — P. 1205 — 1215.
22. Schwab M. PPAR- $\gamma$  is involved in mesalazine-mediated induction of apoptosis and inhibition of cell growth in colon cancer cells / M Schwab, V Reynders, S Loitsch, [et al.] // *Carcin.* — 2008. — Vol.29. — P.1407.
23. Shimada T. Characteristics of the peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) ligand induced apoptosis in colon cancer cells / T. Shimada, K. Kojima, K. Yoshiura, H. Hiraishi, A. Terano // *Gut.* — 2002. — Vol. 50. — P. 658 — 664.
24. Sovak M.A. Aberrant nuclear factorkappaB/ Rel expression and the pathogenesis of breast cancer / M.A. Sovak, R.E. Bellas, D.W. Kim [et al.] // *J Clin Invest.* — 2007. — Vol. 100. — P. 2952 — 2960.
25. Stolfi C. Mesalazine negatively regulates CDC25A protein expression and promotes accumulation of colon cancer cells in S phase / C. Stolfi, D. Fina, R. Caruso [et al.] // *Carcin.* — 2008. — Vol.29. — P. — 1258 — 1266.
26. Svrcek M. Expression of epidermal growth factor receptor is frequent in IBD-associated intestinal cancer / M. Svrcek, J. Cosnes, E. Turet, M. Bennis // *Virchows Arch.* — 2007. — Vol. 450. — P. 243 — 244.
27. Tanaka T. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  inhibit chemically induced colitis and formation of aberrant crypt foci in rats / T. Tanaka, H. Kohno, S. Yoshitani [et al.] // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61. — P.2424 —2428.
28. Thun M.J. Beyond willow bark: aspirin in the prevention of chronic disease. / M.J. Thun // *Epidemiology.* — 2000. — Vol. 11. — P. 371 — 374.

**Стаття надійшла до редакції 22.03.2011**

I.V. CHOPEY, T.M. TERNUSHCHAK, A.M. BRATASYUK

Uzhhorod National University, Faculty of Postgraduate Education, Department of therapy and family medicine, Uzhhorod, Ukraine.

#### THE ROLE FOR AMINOSALICYLATES IN CHEMOPREVENTION OF DYSPLASIA IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS

In this article we investigated the impact of 5-aminosalicylic acid in the prevention of colon dysplasia. Authors presented the modern data pathogenic effect of 5-aminosalicylic acid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs at the molecular level. A relative risk of colon dysplasia in long-term treatment of 5-aminosalicylic acid was determined in patients with ulcerative colitis.

**Key words:** ulcerative colitis, 5-aminosalicylic acid, dysplasia, nonsteroidal anti-inflammatory drugs