

Динамика уровня стабильных метаболитов оксида азота сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой желудка и двенадцатиперстной кишки

Н.В.Трофимов

Днепропетровская государственная медицинская академия, кафедра общей хирургии
Днепропетровск, Украина

Проведен анализ динамики уровня стабильных метаболитов сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой желудка и двенадцатиперстной кишки. Значительное повышение уровня стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови наблюдается у больных с кровоточащей дуоденальной язвой. Эти изменения коррелируют с увеличением степени кровопотери, состояниями непрочного эндоскопического гемостаза, высоким уровнем активности индуцибельной NO-синтазы слизистой оболочки антрального отдела желудка. Полученные данные позволяют прогнозировать характер течения патологического процесса и усовершенствовать лечебную программу.

Ключевые слова: язва желудка и двенадцатиперстной кишки, гастродуоденальное кровотечение.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение кровотечений язвенного генеза из верхних отделов желудочно-кишечного тракта представляет собой одну из актуальных проблем современного здравоохранения [1, 4, 6]. Широкое внедрение методик местного эндоскопического гемостаза требует всестороннего изучения слизистой оболочки гастродуоденальной зоны: характера воспалительно-атрофических изменений, состояние ее кровенаполнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено комплексное обследование 20 больных с кровоточащей язвой желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки (ЛДПК),

которые находились на лечении в центре желудочно-кишечных кровотечений Клинического объединения скорой медицинской помощи г. Днепропетровска. В группе больных с кровоточащей язвой желудка преобладали мужчины – 72,7%, средний возраст которых составил 51 год. Женщины составили 27,3% случаев со средним возрастом 50,1 года. В группе больных с кровоточащей язвой ЛДПК женщины составили 55,6% случаев, мужчины – 44,4%. При этом средний возраст мужчин составил 47,5 года, а женщин 58,6 – лет.

Всем больным при поступлении в стационар проводилось urgentное эзофагогастродуоденоскопическое исследование (ЭГДС) для установления источника кровотечения, его локализации, размера, состояния местного гемостаза по Forrest в модификации В.И.Никишаева и проведения местного эндоскопического гемостаза [5]. Эндоскопический мониторинг с целью профилактики возникновения раннего рецидива кровотечения проводили через 4-6 часов. Объем кровопотери определяли по классификации П.Г.Брюсова, которая используется в клинике. На третьи сутки больным проводилось контрольное ЭГДС и взятие биопсии слизистой оболочки желудка. Взятие биопсии проводилось по общепринятым критериям – в дне желудка, теле желудка, в области угла желудка, антральном отделе желудка и ЛДПК с последующим их гистологическим специализированным иммуногистохимическим исследованием для определения активности индуцибельной NO-синтазы в парафиновых срезах толщиной 3-4 мм. После депарафинации и инактивации эндогенной пероксидазы перекисью водорода (3% р-р 30 мин.) срезы помещались в горячий (70-80) водный раствор, содержащий следы неионогенных детергентов «Твин-80» и «Тритон Х-100» на 5-7 минут. После промывки наносили первичные кроличьи антитела против ин-

дуцибельной NO-синтазы «Santa Cruz USA» в разведении 1:100 на 12 часов при температуре 12°C. Вторичные меченные битином овечьи антикरोличьи антитела в разведении 1:400 наносили на 15 мин. После отмывки забуферным физраствором (рН 7,4) на срезы наносили макромолекулярный комплекс «стрептовидин — пероксидаза хрена» (ABC Kit Elite Vectastaine, Vector Lab. Burlingame USA) в разведении 1:400. Проявления пероксидазы хрена проводили с помощью 3,3'-диаминобензидина тетрагидрохлорида и перекиси водорода. Срезы подкрашивали гематоксилином.

Степень иммунопозитивности NO-синтазы слизистой оболочки рассчитывали согласно подсчетам процента позитивно окрашенных клеток в строме слизистой оболочки. Меньше 2% — негативный результат (0 баллов), 2-10% — незначительное количество (1 балл), 10-50% — умеренное количество позитивных клеток (2 балла), более 50% — большое количество иммунопозитивных клеток (3 балла) [7].

Произведено исследование уровня стабильных метаболитов оксида азота (NO) сыворотки крови у больных обеих групп. Первый забор крови осуществлялся при поступлении больного в стационар, повторное исследование проводилось на третьи сутки пребывания больного в стационаре для оценки динамики изменения данного показателя. Определение уровня стабильных метаболитов NO проводили по стандартной методике. К 0,2 мл сыворотки крови добавляли 2,0 мл депротеинизатора (750 мг ZnSO₄ + 100 мг NaOH до 100 мл H₂O) и инкубировали при температуре 27-30°C в течение 15 мин. Затем пробы центрифугировали при 1500 об./мин. в течение 20 мин. Осадок отбирали количественно, переносили в чистую пробирку и добавляли 1 мл реактива Гриса (10 г в 90 мл 12,5% уксусной кислоты). Пробы оставляли на 15 мин., после этого спектрофотометрировали при 540 нм. Контролем служили 2 мл дистиллированной воды и 1 мл реактива Гриса [2].

Статистическую обработку материала проводили с помощью стандартных компьютерных программ (Statistica 6.0. for Windows) [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе распределения больных по степени кровопотери в обеих группах наблюдается большой процент случаев со значительным объемом кровопотери: в группе больных с язвами желудка он составляет 63,6%, а в группе больных с дуоденальной язвой 77,8%

При анализе эндоскопических показателей выявлено, что активное кровотечение и картина нестабильного местного эндоскопического гемостаза (свежий сгусток, тромбированный сосуд) преобладают в группе больных с язвой ЛДПК и составляет 89% случаев, тогда как в группе больных с язвой желудка доля этих случаев составила 82% наблюдений.

При анализе динамики уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови установлено, что в группе больных с кровоточащей язвой ЛДПК прирост концентрации стабильных метаболитов NO значительно выше, чем в группе больных с кровоточащей язвой желудка при незначительном отличии исходного уровня данного показателя у больных обеих групп. В группе больных с кровоточащей язвой желудка наблюдается прирост показателя с $2,6 \pm 0,96$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $4,6 \pm 2,02$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p > 0,05$). В группе больных с кровоточащей язвой ЛДПК выявлен прирост концентрации стабильных метаболитов NO с $3,6 \pm 2,02$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $11,8 \pm 1,17$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p > 0,05$).

Произведен анализ динамики уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой желудка и ДПК в зависимости от степени кровопотери. Наибольший прирост уровня стабильных метаболитов NO наблюдался при значительных степенях кровопотери у больных обеих групп, особенно в группе больных с кровоточащей язвой ДПК, где наблюдается линейное возрастание показателя при увеличении кровопотери с $6,4 \pm 1,2$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $11,19 \pm 4,3$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) при массивной кровопотере. В группе больных с кровоточащей язвой желудка эта динамика не так выражена, но выявлен достаточно высокий уровень стабильных метаболитов NO ($4,8 \pm 0,65$ нмоль/мл) при средней кровопотере.

Проведен анализ динамики уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови при различных видах местного эндоскопического гемостаза. В группе больных с кровоточащей язвой желудка наибольший прирост показателя с $5,7 \pm 1,5$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $12,6 \pm 3,5$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) наблюдался при активном кровотечении. В группе больных с кровоточащей язвой ЛДПК наибольший прирост показателя наблюдался при эндоскопичес-

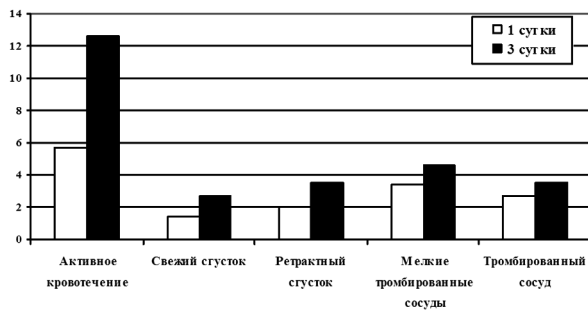


Рис. 1. Динамика уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой желудка при различных видах местного эндоскопического гемостаза.

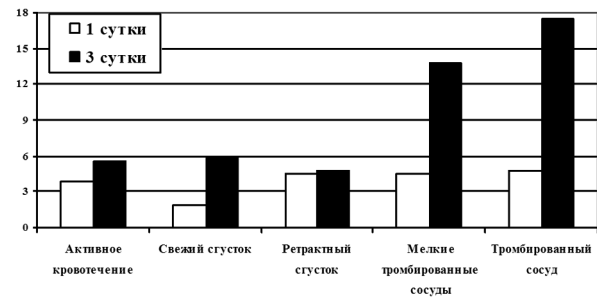


Рис. 2. Динамика уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой ЛДПК при различных видах местного эндоскопического гемостаза.

кой картине нестабильного местного гемостаза — мелких тромбированных сосудов и тромбированного сосуда в зоне язвенного дефекта с $4,6 \pm 1,02$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $13,8 \pm 1,96$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) и с $4,7 \pm 1,2$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $17,5 \pm 3,2$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) соответственно. Приведенные данные представлены на рис. 1, 2.

Проведен анализ зависимости уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови от активности индуцибельной NO-синтазы слизистой оболочки антрального отдела желудка. Индуцибельная NO-синтаза входит в циклооксигеназный комплекс и активируется цитокинами лимфоцитов. При повышении активности индуцибельной NO-синтазы происходит увеличение продукции NO из аминокислоты L-аргинина.

Установлено, что в группе больных с кровоточащей язвой ЛДПК наблюдается линейное возрастание концентрации уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови с $2,3 \pm 0,51$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар до $5,5 \pm 1,2$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) при низкой активности индуцибельной NO-синтазы и с $0,9$ при поступлении больного в стационар до $22,9 \pm 4,7$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$) при выраженной ее активности.

В группе больных с кровоточащей язвой желудка даже в случаях низкой активности индуцибельной NO-синтазы слизистой антрального отдела желудка выявлен высокий базовый уровень стабильных метаболитов NO сыворотки крови, что составило $4,8 \pm 0,85$ нмоль/мл при поступлении больного в стационар, и увеличение данного показателя до $7,1 \pm 2,3$ нмоль/мл на третьи сутки лечения ($p < 0,05$).

При увеличении продукции NO наблюдается выраженная вазодилатация, блокировка ва-

зоконстрикции сосудов подслизистого сплетения желудка, что приводит к увеличению кровенаполнения органа. При этом происходит угнетение процессов тромбообразования в сосудах периульцерозной зоны и дна язвенного дефекта. Эти изменения способствуют увеличению кровенаполнения периульцерозной зоны, могут способствовать возникновению кровотечения и создавать условия для возникновения ее рецидива.

ВЫВОДЫ

1. Наибольший прирост уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови на третьи сутки пребывания в стационаре выражен у больных с кровоточащей язвой двенадцатиперстной кишки при незначительном исходном уровне данного показателя.

2. Наибольший прирост уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови в группе больных с кровоточащей язвой двенадцатиперстной кишки выявлен при значительных степенях кровопотери и в случаях нестабильного гемостаза с высоким риском развития рецидива кровотечения — наличие в зоне дефекта тромбированного сосуда. В группе больных с язвой желудка наибольшее приращение уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови выявлено при эндоскопической картине активного кровотечения.

3. В группе больных с кровоточащей язвой двенадцатиперстной кишки наибольшее приращение уровня стабильных метаболитов NO выявлено в случаях выраженной активности индуцибельной NO-синтазы слизистой оболочки антрального отдела желудка. Высокая активность индуцибельной NO-синтазы слизистой оболочки антрального отдела приводит к вазодилатации и угнетению вазоконстрикции сосудов подслизистого сплетения, что приводит к увеличению кровенаполнения, уг-

нетению тромбообразования в сосудах периферической зоны и повышению риска возникновения рецидива кровотечения.

4. Данные анализа динамики уровня стабильных метаболитов NO сыворотки крови у больных с кровоточащей язвой желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки позволяют спрогнозировать характер течения патологического процесса и усовершенствовать лечебную программу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганжий В.В., Гавриленко Т.С. Алгоритм хирургической тактики при желудочно-кишечных кровотечениях язвенной этиологии // *Клінічна хірургія*. — 2007. — №5-6. — С. 8-10.
2. Горбунов Н.В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток — зерен мозжечка [Текст] / Н.В. Горбунов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* — 1995. — №7. — С. 40-48.
3. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах и по программам. — М.: Медицина, 1996. — 221 с.
4. Иоффе И.В., Шубладзе Д.К. Тактика хирургического лечения острого желудочно-кишечного кровотечения на фоне острого инфаркта миокарда // *Клінічна хірургія*. — 2010. — №2. — С. 12-14.
5. Никишаев В.И. Эндоскопическая диагностика и хирургическая тактика при желудочно-кишечных кровотечениях // *Український журнал малоінвазивної та ендоскопічної хірургії*. — 2001. — №1. — С. 30-31.
6. Тактика и результаты хирургического лечения гастроудоденальных язв, осложненных острым кровотечением, в специализированном центре желудочно-кишечных кровотечений // Е.Н.Шепетько, П.Д.Фомин, А.В.Заплавский, В.Е.Сидоренко [и др.] // *Клінічна хірургія*. — 2007. — №5-6. — С. 88.
7. Rugge M., Genta R. // *Human Pathology*. — 2005. — Vol. 36. — P. 228-233.

М.В.Трофімов. Динаміка рівня стабільних метаболітів сироватки крові у хворих на кровоточиву виразку шлунка та дванадцятипалої кишки. Дніпропетровськ. Україна.

Ключові слова: виразка шлунка та дванадцятипалої кишки, гастродуоденальна кровотеча.

Проведений аналіз динаміки рівня стабільних метаболітів сироватки крові у хворих з кровоточивою виразкою шлунка та дванадцятипалої кишки. Найбільше підвищення рівня стабільних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові спостерігається у хворих на кровоточиву дуоденальну виразку. Ці зміни корелюють зі збільшенням ступеня крововтрати, станами нестійкого ендоскопічного гемостазу, високим рівнем активності індукцибельної NO-синтази слизової оболонки антрального відділу шлунка. Отримані дані дозволяють прогнозувати характер перебігу патологічного процесу та удосконалити лікувальну програму.

N. V. Trofimov. Dynamic of stable nitrogen oxide metabolites in blood serum at patients with bleeding gastric and duodenum ulcer. Dnepropetrovsk. Ukraine.

Key words: gastric and duodenum ulcer, gastroduodenal bleeding.

The analysis of dynamics stable metabolites of nitrogen oxide's level in whey of blood at patients with a bleeding gastric and duodenum ulcer is conducted. Most level's increase of stable nitrogen oxide metabolites of whey of blood is observed at patients with a bleeding duodenal ulcer. These changes correlate with the increase of hemorrhage's degree, unstable local haemostasis, high i-NOS activity's level in antral mucous membrane.

Надійшла до редакції 08.10.2011 р.