

На правах рукописи

Соколова Юлия Борисовна

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОКСИДА АЗОТА И БЕЛКОВ
ТЕПЛОВОГО ШОКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВЕРХНИХ
ОТДЕЛОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ**

14.01.08 - Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва, 2012.

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Минздравсоцразвития России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор кафедры педиатрии ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Минздравсоцразвития России [Кириллов Владимир Иванович](#)

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела инфекционной патологии Центрального Научно-исследовательского института Эпидемиологии Роспотребнадзора МЗ РФ Горелов Александр Васильевич

доктор медицинских наук, академик РАМТН, заслуженный врач РФ, профессор кафедры педиатрии Российской медицинской академии постдипломного образования МЗ РФ Коровина Нина Алексеевна

Ведущая организация:

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.И. Пирогова

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2012 г. в ____ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.040.10. при ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8 стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России по адресу: 117997, г. Москва, Нахимовский пр., д.49

Автореферат разослан « ____ » _____ 2012 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Эрдес Светлана Ильинична

Актуальность проблемы

Патология органов пищеварения занимает одно из ведущих мест в структуре общей детской заболеваемости. Среди хронических заболеваний органов пищеварения у детей привлекают внимание эрозивно-язвенные и дизаритмические поражения желудочно-кишечного тракта, что определяется ростом частоты эрозивных форм гастродуоденита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни с возрастающей тенденцией к «омоложению» вышеперечисленной патологии. [Баиров В.Г., Приворотский В.Ф. и соавт., 2000; Баранов А.А., 2002 г.; Drossman D.A., 2002].

В последние годы заметно возрос интерес к проблеме патофизиологической роли оксида азота (NO) при целом ряде патологических состояний [Brune B., von Kneten A., 1998; Северина И.С., 1999; Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., 2000]. Благодаря использованию методов молекулярной биологии многочисленные исследования последних с убедительностью показали уникальные свойства оксида азота в реализации большинства важнейших клеточных процессов человеческого организма в ответ на воздействие стрессорных факторов [Волин М.С., Дэвидсон К.А. и соавт., 1998; Goren A.K.F., Majer B., 1998; Ивашкин В.Т., Малышев И.Ю. и соавт., 2000; Драпкина О. М., Манукина Е.Б., 2000].

Метаболиты оксида азота, являясь универсальным вторичным клеточным мессенджером и опосредуя фундаментальные функции по межклеточной коммуникации, клеточному дыханию, нейротрансмиссии, иммунологической защите, вазодилатации, принимают участие в защитных и повреждающих реакциях организма при целом ряде патологических состояний, включая заболевания пищеварительного тракта [Марков Х.М., 1997; Голиков П.П., 1999].

В частности, установлено влияние оксида азота в качестве нейромедиатора NANC-нейронов, иннервирующих желудочно-кишечный

тракт, на механизмы перистальтики тонкой и толстой кишки. Напротив, подавление его продукции специфическими ингибиторами приводит к функциональным нарушениям желудочно-кишечного тракта [Голиков Л.П., 1999; Трухманов А.С., Ивашкин И.Т., 2000]. Недавно обнаружен эффект стимуляции заживления ран воздушно-плазменным потоком [Пекшев А.В., 2003], при котором установлена доминирующая роль оксида азота в репаративных процессах [Москаленко В.И., 2007]. Установлена также способность оксид азота диффундировать через неповрежденную кожу, слизистые, благотворно воздействуя на глубоко расположенные ткани (эндотелий и микроглию) при сосудистой и нервной патологии, что открыло новые «горизонты» в применении его в различных отраслях медицины [Есипов А.В. с соавт., 2008-2010]. Возможность направления NO-содержащих газовых потоков через эндоскопическую и хирургическую технику значительно расширяет перспективы NO-терапии язвенно-некротических, склеротических, гиперпластических и, возможно, опухолевых процессов [Марахонич Л.А., Москаленко В.И., Пекшев А.В., 2002; Лукьяненко Е.В., 2006].

Реакция белков теплового шока (БТШ), или стресс-белков (СБ), или heat shock proteins (HSP), обладает цитопротективными свойствами и обусловлена их шаперонной («сопроводительной») способностью, связанной с удалением поврежденных стрессорными факторами продуктов. Особый интерес представляют индуцибельные белки теплового шока, в том числе HSP-70, которые накапливаются при повреждающих стрессовых воздействиях [Schlestronger, 1990; Fan et al., 2005; Neshihana et al., 2008] и через активацию антигенпредставляющих клеток интегрирующей реакции врожденного и адаптивного иммунитета [Multhoff К.М., 2006]. Белки теплового шока оказывают также антиапоптотическое влияние [Nona, 1998]. Необходимо отметить взаимодействие системы оксида азота и такими компонентами эндогенной защиты, как белки теплового шока, с потенцирующим или

ингибирующим конечным эффектом [Benjamin I.J., McMillan R., 1998; Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., 2001].

Отмечая несомненные достижения в изучении роли индуцибельных белков в патологии взрослых, следует подчеркнуть недостаточность подобных исследований в педиатрии. В наибольшей мере это касается заболеваний органов пищеварения. Принимая во внимание универсальность стресс-индуцибельных систем, трудно исключить их значимость при патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта. В доступной литературе явно недостаточно работ, посвященных проблеме патофизиологической роли оксида азота и стресс-белков, а, главное, их диагностическим аспектам, при заболеваниях верхних отделов пищеварительного тракта у детей, что и определило цель работы и поставленные задачи для ее реализации.

Цель исследования - изучить диагностическую значимость определения метаболитов оксида азота и белков теплового шока у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Задачи исследования

1. Определить уровень содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови и реакцию стресс-белков в прогретых лимфоцитах периферической крови у детей при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, хроническом эрозивном гастродуодените, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в зависимости от клинических особенностей.

2. Исследовать влияние степени активности патологического процесса, продолжительности заболевания и обсемененности пилорическим хеликобактером на изучаемые показатели.

3. Провести сопоставительный анализ метаболитов оксида азота и показателей белков теплового шока при заболеваниях верхних отделов пищеварительного тракта у детей.

4. Установить влияние компонентов патогенетической терапии на изучаемые показатели при патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Научная новизна

Впервые на основании комплексного исследования установлены закономерности реакции стресс-индуцибельных систем, связанные с клиническими особенностями и активностью патологического процесса у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Эрозивные варианты гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, язвенная болезнь желудка и множественные дефекты слизистой оболочки при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки характеризуются сниженными значениями оксида азота.

Отличительной особенностью белков теплового шока семейства HSP 70 является нарастание их продукции в прогретых лимфоцитах у детей с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

Впервые в детской гастроэнтерологии установлены дискордантные взаимоотношения содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови и реакции белков теплового шока, свидетельствующие о наличии саморегулирующих систем при стресс-индуцированных процессах.

Впервые у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта выявлена зависимость реакции стресс-индуцибельных систем от хеликобактерной ассоциации и давности патологического процесса.

Практическая значимость

Результаты исследования позволяют рекомендовать применение методик определения уровня содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови и реакции стресс-белков в подвергнутых тепловому шоку лимфоцитах для дифференциальной диагностики вариантов патологии верхних отделов пищеварительного тракта у детей: эрозивной и неэрозивной форм эзофагита, кислотных и щелочных забросов в пищевод при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, язвенных и неязвенных поражений гастродуоденальной зоны.

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности с диагностических позиций первоочередного определения реакции белков теплового шока семейства HSP 70, так как в случае отрицательного результата вероятность отклонения от нормы содержания метаболитов оксида азота крайне низка.

Показатели реакции стресс-индуцибельных систем могут быть использованы в качестве дополнительных критериев оценки степени активности патологического процесса. При этом метаболиты оксида азота следует отнести к более лабильным показателям.

Преимуществом применения ингибиторов протонной помпы является стимулирование нормализации уровня содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови в качестве дополняющего клиническую динамику лабораторного показателя ремиссии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Различные варианты изучаемых нозологических форм отличаются значительной вариабельностью показателей уровня метаболитов оксида азота и реакции стресс-белков.
2. Характерной особенностью язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки у детей являются низкие показатели уровня оксида азота в сочетании с повышенным синтезом белков теплового шока при наличии множественных дефектов слизистой оболочки и

выявление обратной корреляции изучаемых показателей при единичных поражениях.

3. Реакция стресс-индуцибельных систем зависит от ассоциации хронических заболеваний пищеварительного тракта с пилорическим хеликобактериозом, длительности патологического процесса, наличия эрозивных изменений при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, а также указывает на динамические саморегулирующие механизмы на фоне проводимых курсов терапии изучаемых заболеваний.

Апробация работы и внедрение результатов в практику

Определение содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови и реакции белков теплового шока в лимфоцитах в качестве дифференциально-диагностических методов внедрены в практику работы гастроэнтерологического отделения Детской городской клинической больницы святого Владимира.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 10, 12 и 13-м Международных Славяно-Балтийских форумах « Санкт-Петербург-гастро-2008,2010, 2011».

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на *170* страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объема и методов исследования, двух глав о результатах собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего *210* источников, в том числе *60* отечественных и *160* зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована *20* таблицами, *18* рисунками и содержит два клинических примера.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 2 статьи в научных изданиях, рецензируемых ВАК.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Настоящее исследование основано на результатах клинико-лабораторного анализа детей, находящихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении (зав. отделением, врач высшей категории Стрижова И.С.) Детской городской клинической больницы святого Владимира г. Москвы (главврач Касьянов П.П.), в течение 2003-2011 гг. Специальные методы исследований проводились в научно-исследовательском институте Патологии и Адаптационных систем организма человека под руководством д.м.н., профессора Малышева И.Ю.

Проведено комплексное клиническое и лабораторное обследование 88 детей с хронической патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта в возрасте от 6 до 18 лет ($M \pm SD = 12,2 \pm 2,4$ лет). В обследованную группу вошли пациенты с впервые установленным диагнозом, а также имеющие анамнез заболевания до 7,2 лет. Соотношение мальчиков к девочкам составило 60: 28 (2,1:1). Нозологическая характеристика обследованных пациентов представлена на рис. 1.

Пациенты с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) составили группу из 32 ($n=32$) с кислотными ($n=19$), щелочными ($n=11$) и смешанными ($n=2$) забросами. При этом, эрозивные варианты эзофагита встретились у 7 пациентов. С язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) обследовано 23 ребенка ($n=23$): 8 – с единичными дефектами слизистой оболочки, 15 – с множественными.

Хронический эрозивный гастродуоденит (ХЭГД) отмечался у 21 ребенка, язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) – у 10 пациентов. В группу обследованных включено также двое подростков с пищеводом Барретта (ПБ).

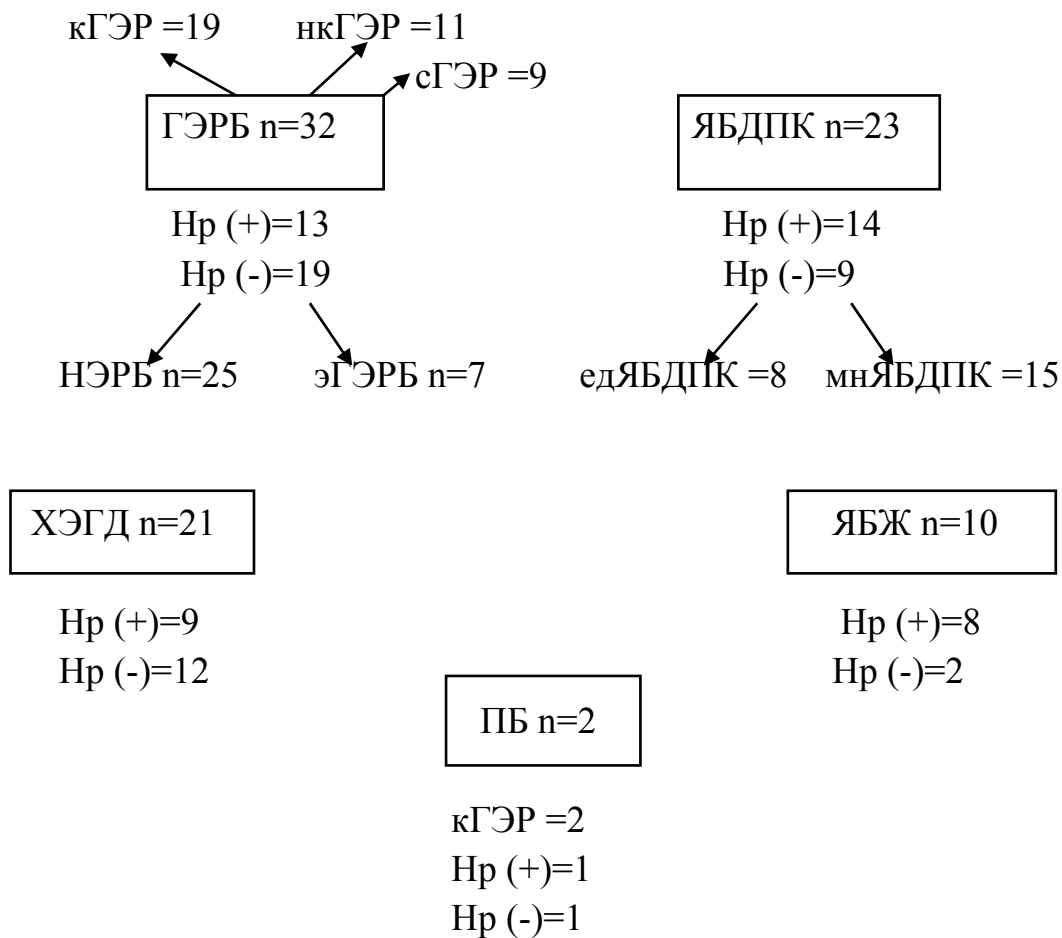


Рис. 1. Нозологическая характеристика детей с патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта (n=88).

В качестве контрольной группы исследовано 13 практически здоровых детей в возрасте от 6 до 17 лет ($M \pm SD = 11,1 \pm 2,8$ лет) без соматической патологии и не имеющих в течение ближайшего месяца острых инфекционных заболеваний и травм.

Всем детям была проведена эзофагофиброгастродуоденоскопия (ЭФГДС) по общепризнанной методике с использованием детского фиброгастроэндоскопа фирмы "Olympus" моделями GIF - XP 20 и GIF - XP 10 (Япония). Оценку признаков воспаления гастродуоденальной зоны проводили с учетом классификации П.Я.Григорьева и Э.П.Яковенко (1990).

Степень обсемененности пилорическим хеликобактером идентифицировалась с помощью бактериологического метода (Аруин и др., 1993).

Диагностика гастроэзофагеальной рефлюксной болезни включала оценку показателей суточного интрагастрального рН-мониторинга на приборе ["Гастроскан-24" АГМ 24](#) («[Исток-система](#)», Россия) с последующей компьютерной конвертацией результатов. При определении патологического рефлюкса использовались [нормативы De Meester TR](#) (1999). При этом в пользу патологического кислотного гастроэзофагеального рефлюкса свидетельствовала продолжительность времени с $\text{pH} < 4,0$ (%), некислотного гастроэзофагеального рефлюкса – увеличение $\text{pH} > 7,0$ на протяжении 10 и более процентов времени исследования. Смешанный гастроэзофагеальный рефлюкс верифицировался при сочетании показателей, характеризующих патологический кислотный и щелочной ГЭР. Кроме того, пациентам всех групп проводилось рентгенологическое исследование пищевода и желудка с диагностическим контрастированием 2 % взвесью сульфата бария и водно-сифонной пробой, что позволяло оценить уровень заброса желудочного содержимого в вышележащие отделы.

Специальные методы исследования включали определение уровня оксида азота в виде его конечных метаболитов (нитратов и нитритов) в плазме крови с помощью спектрофотометрического метода по реакции Гриса, а также стресс-белков семейства HSP 70. Реакция белков теплового шока оценивалась в подвергнутых тепловому шоку лимфоцитах периферической крови методом стабилизационной инкубации с последующим прогреванием их по приросту фракции за 2-3 суток как минимум на 0,01%. Специальные методы исследования предпринимались в период активных проявлений патологии (при поступлении в стационар) и спустя 3-4 недели (при выписке).

Лечебные мероприятия проводились с учетом существующих протоколов и в зависимости от варианта нозологических форм включали медикаментозную терапию (антацидными), цитопротекторными, антисекреторными, антибактериальными препаратами, спазмолитическими, прокинетическими средствами.

Статистическая обработка материала производилась на персональном компьютере с помощью программы «Статистика 6.1», Microsoft Excel 2007 согласно рекомендациям по медицинской статистике.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оксид азота

Для стандартизации получаемых показателей оксида азота проведено исследование конечных метаболитов оксида азота у здоровых детей, которые выявили разброс индивидуальных значений от 0,296 мМоль/л до 0,876 мМоль/л со средним нормальным уровнем - $M \pm SD = 0,513 \pm 0,174$ мМоль/л. В диапазоне включенных в исследование возрастных групп (6-11 лет и 12-18 лет) статистически значимых различий по данным оксида азота не обнаружено ($p > 0,1$).

В совокупной клинической группе детей с патологией верхних отделов пищеварительной системы ($n=88$) доминировали нормальные показатели оксида азота (68,2%), примерно в четверти наблюдений зарегистрировано их снижение (26,1%) и лишь в пяти наблюдениях отмечено нарастание значений (5,7 %) (рис.2).

Распределение частот отклонений от нормативов в зависимости от нозологических особенностей носило неравномерный характер, что отразилось на различиях средних значений оксида азота (таб.1). Низкие показатели метаболитов оксида азота отмечались, главным образом, у детей с язвенной болезнью желудка (100,0%) ($p < 0,001$ - $p < 0,001$). В других клинических группах средние показатели метаболитов оксида азота достоверно не отличались от нормативов, хотя при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и хроническом эрозивном гастродуодените

подобные значения примерно в четверти наблюдений индивидуальные значения были низкими (26,1% и 23,8% соответственно).



Рис.2. Показатели метаболитов оксида азота у детей с патологией верхних отделов пищеварительной системы (n=88).

Таблица 1.

Результаты определения метаболитов оксида азота в различных клинических группах детей с хронической патологией верхних отделов пищеварительного тракта (n=88).

Нозология	M+- SD, мМоль/л	Отклонения от нормы (n-%):		
		Ниже	Нет	выше
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (n=32)	0,632 +- 0,199	2 - 6,2	29 - 90,6	1 - 3,2
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (n=23)	0,513 +- 0,211*	6 - 26,1	15 - 65,2	2 - 8,7
Хронический эрозивный гастродуоденит (n=21)	0,459 +- 0,208**	5 - 23,8	16 - 76,2	—
Язвенная болезнь желудка (n=10)	0,140 +- 0,018***	10 - 100,0	—	—
Пищевод Барретта (n=2)	0,936; 0,986	—	—	2 - 100,0
Здоровые (n=13)	0,513 +- 0,174	—	—	—

* - по сравнению с ГЭРБ p<0,05

** - по сравнению с ГЭРБ p<0,01

*** - по сравнению с нормой и другими нозологическими формами <0,001- p<0,001.

У детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью средние показатели оксида азота достоверно превышали их величины в группах пациентов с другими вариантами патологии ($p < 0,05$ – $p < 0,001$), но не отличались от нормативов. У двух детей с пищеводом Барретта изучаемые показатели были повышены.

На результатах проведенных исследований в определенной степени отразились анамнестические данные. У детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки при рецидивах патологического процесса изучаемые средние показатели характеризовались более высоким содержанием конечных метаболитов оксида азота по сравнению с показателями у детей с впервые установленным диагнозом (при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни это носило достоверный характер ($p < 0,05$)).

Необходимо подчеркнуть, что если в совокупной группе пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью независимо от продолжительности заболевания средние значения оксида азота не отличались от нормы, то в подгруппе детей с длительным анамнезом патологии (1,2-7,2 лет) они были достоверно выше показателей здоровых детей ($p < 0,05$).

При хроническом эрозивном гастродуодените у небольшого числа детей с рецидивами ($n=5$) метаболиты оксида азота характеризовались тенденцией к более высоким значениям ($p > 0,1$). Давность патологии в случае язвенной болезни желудка не влияла на низкие показатели метаболитов оксида азота ($p > 0,1$).

Оценивая при ГЭРБ характер связи обсемененности пилорическим хеликобактером и метаболитов оксида азота, можно отметить значительно более высокие их значения у детей с ГЭРБ, имеющих ассоциацию с данным микроорганизмом ($p < 0,001$). В той же группе изучаемые показатели

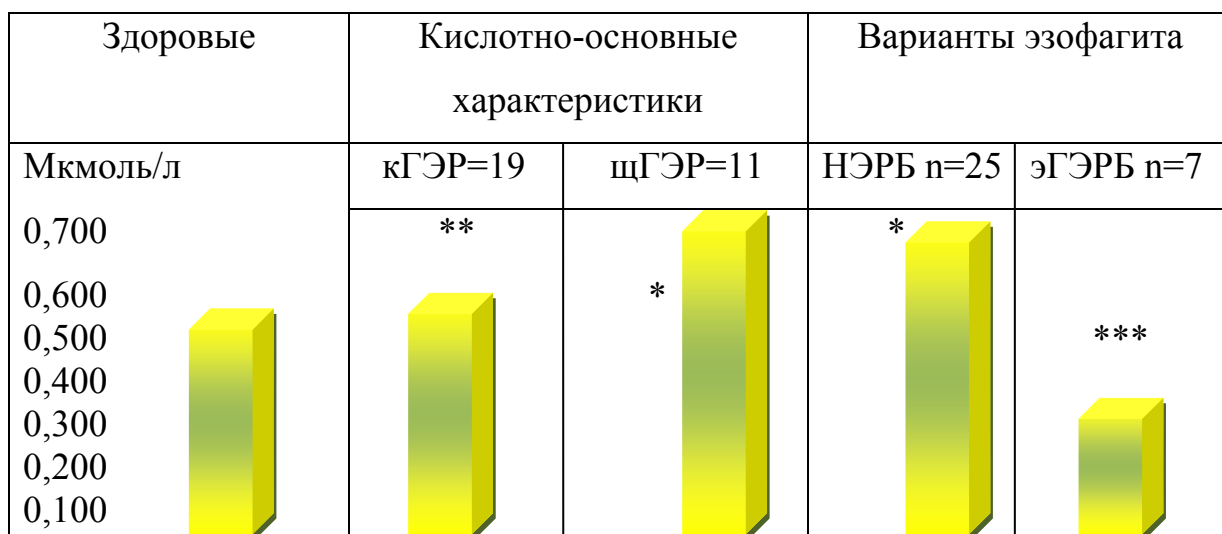
превышали и нормативы ($p < 0,001$). Похожие, но недостоверные отличия имели место при единичных язвенных дефектах слизистой оболочки при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. В случае множественных язвенных дефектов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки оксид азота был значимо выше у пациентов, не имеющих хеликобактерной ассоциации ($p < 0,05$). При хроническом эрозивном гастродуодените ассоциация с хеликобактериозом не влияла на изучаемые показатели ($p > 0,1$).

Анализ внутринозологических особенностей вывил ряд закономерностей. В частности, у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью сывороточное содержания метаболитов оксида азота зависело от кислотно-основных характеристик. При некислотных вариантах рефлюкса они были выше по сравнению с кислотным ГЭР ($p < 0,01$) и нормативами ($p < 0,001$) (рис.3). Подобными некислотному ГЭР отличиями обладали неэрозивные варианты рефлюксной болезни. Пациенты с данным вариантом патологии имели изучаемые показатели, значительно превышающие содержание оксида азота не только у детей с эрозиями пищевода ($p < 0,001$), но и у практически здоровых детей ($p < 0,001$).

Подводя итоги определения данных метаболитов при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, следует подчеркнуть, что, несмотря на малые отличия от нормы изучаемых показателей в совокупной группе, целый ряд клинических характеристик оказывал достоверное ГЭР влияние на уровень оксида азота. В частности, некислотный и неэрозивные варианты ГЭР, ассоциация с пилорическим хеликобактериозом, большая давность процесса отличались повышенными значениями метаболитов оксида азота.

По-видимому, относительное нарастание оксида азота в периферической крови за счет индуцибельных форм у детей с ГЭРБ отражает компенсаторные реакции организма, направленные на ликвидацию моторных нарушений, и о чем свидетельствуют данные о влиянии указанных метаболитов на

сократительную активность и перистальтику желудочно-кишечного тракта, включая пищевод [Голиков Л.П., 1999; Трухманов А.С., Ивашкин И.Т., 2000].



*- р по сравнению с показателями у здоровых детей $p < 0,001$;

** - р по сравнению с референтной группой $p < 0,01$;

*** - р по сравнению с референтной группой $p < 0,001$.

Рис. 3. Метаболиты оксида азота ($M \pm SD$) при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в зависимости от кислотно-основных характеристик и наличия эрозий в пищеводе ($n=32$)

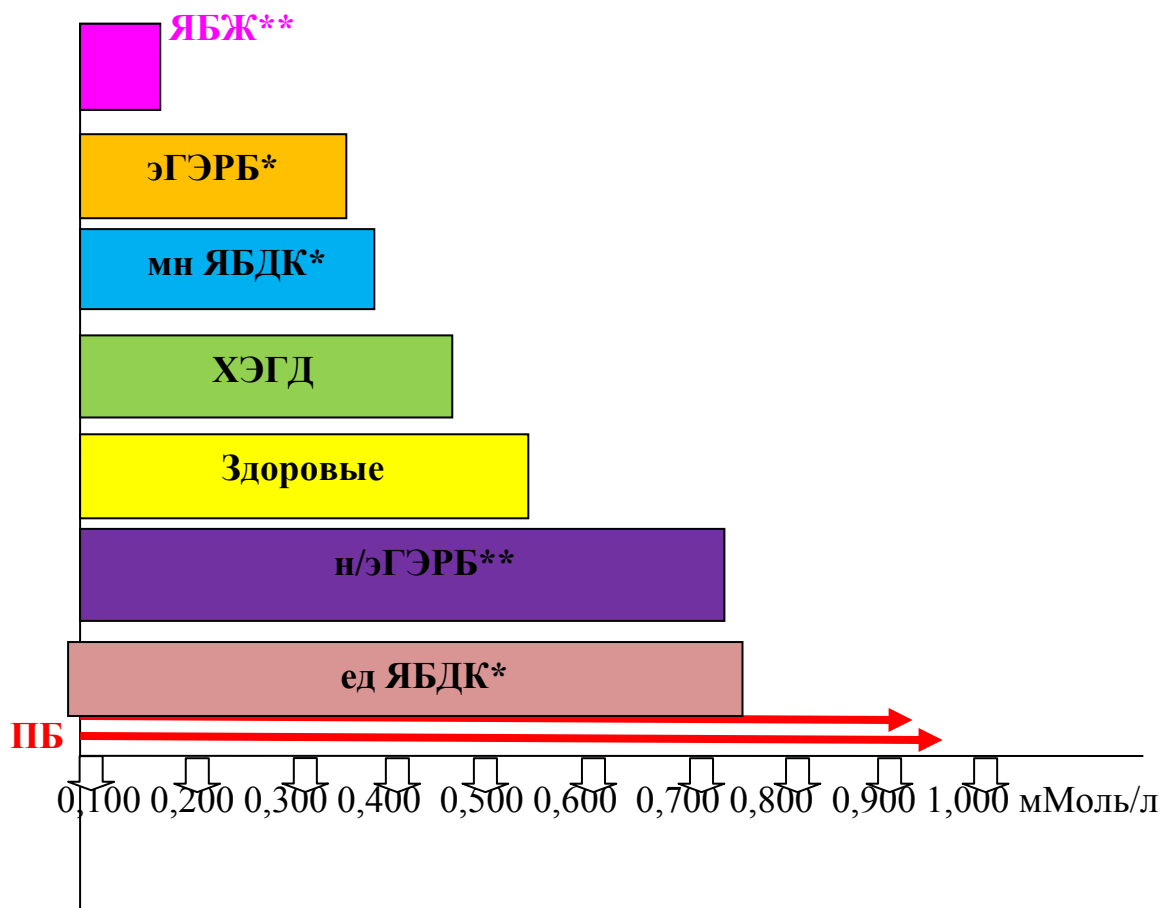
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки также оказалась неоднородной в отношении изучаемых показателей. Если в целом у детей с данной патологией метаболиты оксида азота достоверно не отличались от нормативов, то случаи с единичными дефектами характеризовались значительно более высокими показателями по сравнению с пациентами, имеющими множественные язвы ($p < 0,001$) и контрольной группы ($p < 0,05$). Более того, при множественных язвенных дефектах двенадцатиперстной кишки средние уровни оксида азота отличались достоверным снижением по сравнению с нормативами ($p < 0,05$).

Полученные данные о низких уровнях метаболитов оксида азота при множественных дефектах слизистой оболочки и особенно при язвенной болезни желудка являются свидетельством декомпенсации протективных систем, противостоящих факторам агрессии.

Подобное заключение созвучно с данными о принадлежности оксида азота к гастропротекторам, способствующим заживлению ацетатных язв, препятствующим этаноловому повреждению желудка, восстанавливающим местный кровоток [Северин Е.С., Муйжнек Е.Л., Северин С.Е., 2005; Чернеховская Н.Е. и соавт., 2010].

Таким образом, с учетом полученных данных у детей с различными вариантами хронической патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта можно распределить показатели метаболитов оксида азота в следующей нарастающей последовательности (рис. 4). Минимальные значения оксида азота являлись отличительными признаками язвенной болезни желудка, за ними, нарастая, но, оставаясь в целом ниже нормы, располагались средние величины оксида азота у детей с эрозивным эзофагитом и множественными язвенными дефектами слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. У детей с хроническим эрозивным гастродуоденитом средние уровни метаболитов оксида азота имели тенденцию к понижению. Максимальные цифры оксида азота были присущи неэрозивным вариантам ГЭРБ и детям с единичными язвами двенадцатиперстной кишки, а также двум подросткам с пищеводом Барретта.

На основании выстроенной иерархии показателей оксида азота целесообразно высказать предположение о том, что высокие уровни данных метаболитов отражают процессы мобилизации и адекватную стресс-реакцию на повреждающие факторы и характеризуют, главным образом, сравнительно легкие поражения ЖКТ.



По сравнению с нормой: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$

Рис. 3. Распределение показателей оксида азота ($M \pm SD$) при патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта ($n=88$).

Низкий уровень индуцибельных форм оксида азота соответствует стадии истощения при большей выраженности и распространенности патологического процесса. Об указанной стадийной реакции стресс-индуцибельных систем свидетельствуют литературные данные [Ивашкин В.Т, Драпкина О.М., 2001].

При повторном исследовании детей с неэрозивным и эрозивным вариантами ГЭРБ отмечалась разнонаправленная динамика показателей оксида азота : либо снижение ($p < 0,001$) в первом случае, либо умеренное нарастание при эрозивных дефектах слизистой оболочки пищевода. В итоге во всех случаях произошла нормализация изучаемых величин.

Подобная модуляция исходных значений оксида азота происходила при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. У детей с единичными

язвенными дефектами слизистой оболочки на фоне проводимой терапии изучаемые показатели закономерно снижались ($p < 0,01$), а в случае множественных язв – не существенно, но нарастали ($p > 0,05$), сменяясь средними значениями, близкими к норме с ($p > 0,1$). Все же у 3 из 15 пациентов оксид азота оставался низким.

У детей с хроническим эрозивным гастродуоденитом средние значения метаболитов оксида азота имели лишь слабую тенденцию к нарастанию в динамике заболевания ($p > 0,1$), хотя у 11 из 21 больных индивидуальные показатели явно повышались. Все же при повторном исследовании у 4 детей показатели были ниже нормативов.

Несмотря на отчетливую нарастающую динамику изучаемых показателей у детей с язвенной болезнью желудка ($p < 0,02$), итоговые показатели метаболитов оксида азота по мере наступления ремиссии в 8 из 10 случаев так и оставались низкими.

В суммарной группе пациентов с патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта ($n=88$) при наступлении ремиссии оставалось 15 детей (17,4 %) с низкими уровнями метаболитов оксида азота. Максимальный процент таких случаев отмечен при язвенной болезни желудка (80,0 %). При множественных дефектах слизистой оболочки у пациентов с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и хроническом эрозивном гастродуодените итоговые низкие показатели зарегистрированы в 20,0 % и 19,0 % случаев соответственно.

Таким образом, ликвидация клинических признаков изучаемых патологических состояний сопровождается у большинства пациентов положительной динамикой показателей оксида азота, что может служить дополнительным критерием наступления ремиссии.

В ходе динамических исследований были проанализированы показатели оксида азота в зависимости от включения в проводимую терапию ингибиторов протонной помпы (ИПП). В группу, получавшую ингибиторы

протонной помпы (ИПП), вошло 19 детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (n=5), язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (n=6), хроническим эрозивным гастродуоденитом (n=4) и язвенной болезнью желудка (n=4). Референтную группу (не получавших ИПП) вошло также 19 пациентов с аналогичной структурой патологии верхних отделов пищеварительной системы. Исходные величины оксида азота в основной и референтной группах не отличались ($p > 0,1$).

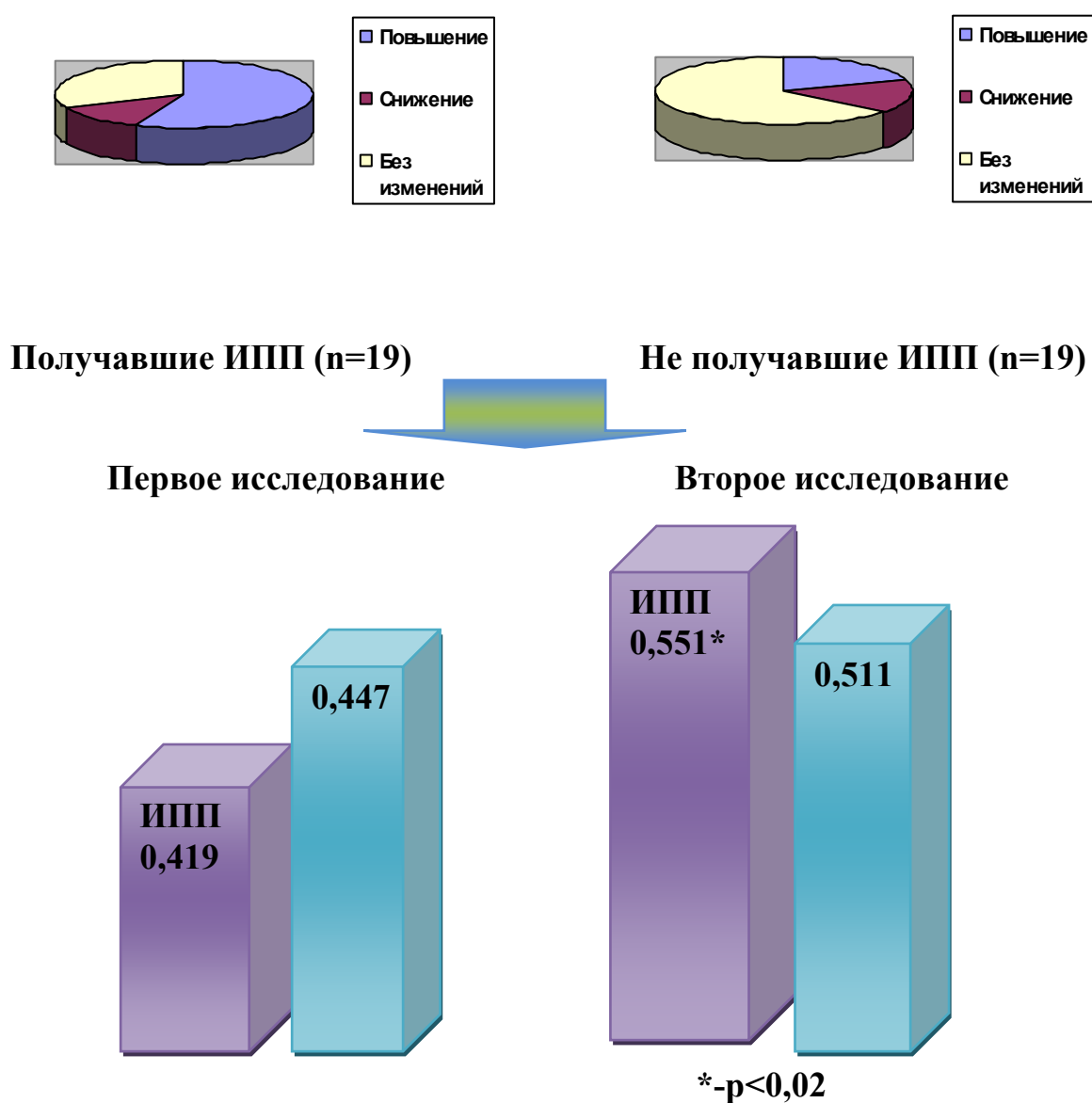


Рис. 5. Динамика показателей метаболитов оксида азота (M±SD) у детей с патологией верхних отделов ЖКТ в зависимости от применения ИПП (n=38).

В группе детей, получавших ИПП, почти в 3 раза чаще (57,9 %) преобладало нарастание исходных значений оксида азота по сравнению с референтной группой (21,0%), у которых доминировали случаи (63,2%), где оксид азота в динамике не изменялся (рис. 5).

У детей основной группы, т.е. получавших ИПП, показатели оксида азота достоверно нарастали ($p < 0,02$). Повторное исследование в группе пациентов без применения ИПП не обнаружило значимых изменений в содержании оксида азота ($p > 0,1$). К моменту выписки из стационара сниженные уровни метаболитов в основной группе отмечены в 2 наблюдениях (10,5 %), а в референтной – в 7 (36,8%).

Проведенные исследования показали, что в сходных клинических ситуациях хронических заболеваний верхних отделов ЖКТ включение в лечебную тактику ингибиторов протонной помпы сопровождалось по мере разрешения патологического процесса более высокими темпами нарастания и нормализации изучаемого показателя. По-видимому, это было обусловлено влиянием ИПП на скорость ликвидации ассоциированных с оксидом азота метаболических дефектов.

Белки теплового шока семейства HSP 70

Клиническая значимость фракции белков теплового шока семейства HSP 70 исследована у 69 детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью ($n=24$), язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки ($n=18$), хроническим эрозивным гастродуоденитом ($n=15$), язвенной болезнью желудка ($n=10$) и 2 пациентов с пищеводом Барретта. Суммарно реакция белков теплового шока идентифицирована у 26 обследованных детей (37,7%) с пределами колебаний прироста фракции от 0,10 % до 2,26 %. Продукция белков теплового шока регистрировалась с различной частотой в зависимости от нозологии.

Изучаемые белки синтезировались в активной стадии язвенной болезни желудка у всех детей ($n=10$, 100,0%), реже - при множественных дефектах

слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (n=11, 61,1 %) и у 3 детей с хроническим эрозивным гастродуоденитом (20,0%) (таб.2). Один ребенок с эрозивным рефлюкс-эзофагитом, инфицированный *H. pylori*, дал прирост фракции 70 на 1,22 %. Реакция БТШ обнаружена у одного из 2 детей (прирост фракции на 0,19%) с пищеводом Барретта. При положительных результатах определения БТШ максимальные средние уровни установлены при язвенной болезни желудка (различия существенны только по отношению Таблица 2.

Результаты определения метаболитов белков теплового шока у детей с хронической патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта (n=69).

Нозология	Положительные результаты (n-%)	Показатели (%):	
		Колебания	M+- SD
Язвенная болезнь желудка (n=10)	10 –100	0,19-1,56	1,00+-0,44
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (n=18)	11– 61,1	0,10-2,25	0,66+-0,68
Хронический эрозивный гастродуоденит (n=15)	3– 20,0	0,15-0,68	0,39+-0,31*
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (n=24)	1 - 4,2	1,22	--
Пищевод Барретта (n=2)	1-50,0	0,19	--
Всего (n=69)	26 –37,7	0,10-2,25	0,76+-0,54

* - по сравнению с ЯБЖ p<0,02

Таким образом, реакция белков теплового шока была характерна для язвенных поражений гастродуоденальной зоны, особенно с локализацией в желудке. Накопление БТШ семейства HSP 70 в лимфоцитах отражает их способность к защите биологических систем от повреждающих стрессорных воздействий, что проявляется в антиапоптотическом действии [Kim et al, 1997], элиминации денатурированных протеинов [Schlessinger M., 1990], иммуностимулирующих свойствах [Киселев В.И., Лященко А.А., 2005], реализации антигенпредставляющих функций иммунocyтaми [Multhoff K.M., 2000].

В наших исследованиях индукция БТШ происходила, главным образом, у детей с выраженным деструктивным процессом слизистых оболочек. По-видимому, более «легкие» повреждения не требовали включения стресс-лимитирующих механизмов.

На изучаемые показатели БТШ влияла давность патологического процесса. В совокупной группе детей с хронической патологией верхних отделов пищеварительного тракта значения стресс-белков были достоверно ниже ($p < 0,01$), а положительные результаты встречались чаще (50,0 %) при длительности анамнеза более 1 года по сравнению с пациентами с впервые установленным диагнозом (30,2 %). Достоверно низкие показатели при большей длительности заболевания отмечены и при отдельном анализе у детей с язвенной болезнью желудка ($p < 0,05$) и двенадцатиперстной кишки ($p < 0,05$).

Позитивные результаты исследования БТШ в 5 раз чаще встречались у детей с идентификацией *H. pylori* (61,8%) по сравнению с группой, не инфицированной данным микроорганизмом (12,1 %). На средние показатели БТШ хеликобактерная ассоциация существенно не влияла ($p > 0,1$).

Повторное исследование в периоде ликвидации активных проявлений изучаемых патологических состояний установило, что из 26 детей с исходной реакцией белков теплового шока в 10 наблюдениях (38,5 %) происходило

снижение их продукции не менее, чем на 20, 0%, а в 16 - зафиксированы отрицательные результаты (61,5 %). Следовательно, за период наблюдения в динамике частота идентификации БТШ снижалась от исходных 37,7 % до 14,5 %. В случае сохранения реакции стресс-белков их средние величины были достоверно ниже по сравнению с их значениями ($p < 0,01$).

Проведенные сравнительные исследования показали, что максимальное накопление БТШ фракции 70 b происходит в период активных проявлений заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта (в основном при язвенных поражениях гастродуоденальной зоны) со снижением частоты их встречаемости и числовых значений по мере наступления ремиссии, что позволяет отнести показатели изучаемой стресс-реакции к дополнительным критериям остроты патологического процесса.

Сопоставительный анализ позволил установить, что в случае наличия реакции БТШ ($n=26$) доминировали низкие уровни метаболитов оксида азота (69,2 %), а высокие встречались лишь в 2 случаях (7,7 %) (рис. 6). Напротив, в случае отсутствия реакции БТШ ($n=43$) вероятность отклонений от нормы показателей метаболитов оксида азота была очень мала: только в виде 2 случаев (4,6 %) низких и 3 (7,0 %) высоких значений.

Анализ обратных взаимосвязей изучаемых показателей установил наибольшую вероятность положительных результатов определения БТШ (90,0%) при низких значениях метаболитов оксида азота или в 18 из 20 случаев.

При отсутствии отклонений от нормы оксида азота подобные шансы были минимальны, т.е. у 6 из 44 пациентов (13,6%). Из 5 больных с высокими уровнями метаболитов оксида азота у 2 пациентов (40,0%) зарегистрирована реакция белков теплового шока.

Более детальное изучение взаимоотношений изучаемых показателей установило зависимость содержания оксида азота от вариантов реакции стресс-белков и их последующей динамики. Средние уровни оксида азота в

случае положительных значений стресс-белков были явно ниже по сравнению со случаями отсутствия их идентификации. Подобная закономерность касалась как пациентов со снижением уровней БТШ (n=10), так и у больных с отрицательными результатами при повторном исследовании (n=16) ($p < 0,001$; $p < 0,001$).

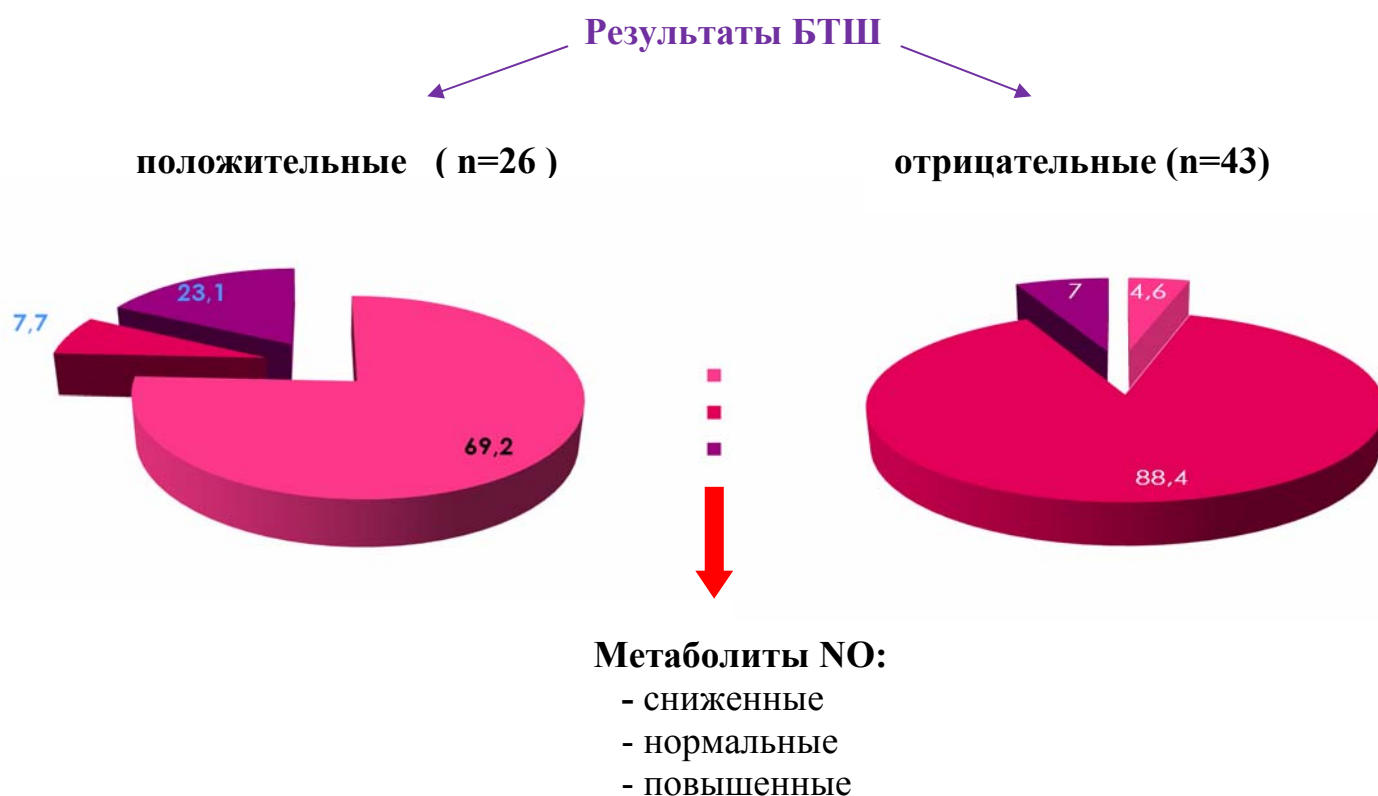


Рис. 6. Показатели оксида азота в зависимости от результатов определения белков теплового шока у детей с хронической патологией верхних отделов желудочно-кишечного тракта (n=69).

При сохранении синтеза БТШ метаболиты оксида азота оставались на уровне низких значений по сравнению с нормативами ($p < 0,001$) при отсутствии значимой динамики в процессе обследования ($p > 0,1$). В случае исчезновения реакции стресс-белков оксид азота отчетливо нарастал ($p < 0,05$) и при повторном исследовании был достоверно выше, чем в предыдущей группе ($p < 0,02$), но все еще оставался ниже нормы ($p < 0,02$). Нормальные

средние уровни конечных метаболитов оксида азота на всем периоде наблюдения характеризовались отсутствием реакции БТШ.

Установленные антагонистические взаимоотношения метаболитов оксида азота с белками теплового шока отмечаются в исследованиях Ивашкина В.Т. и Драпкиной О. М. (2001) и тракуются в качестве признаков отрицательной обратной связи в саморегулирующих системах адаптации к стрессорным воздействиям патогенетических факторов.

ВЫВОДЫ

1. Заболевания пищеварительного тракта у детей отличаются стадийной реакцией стресс-индуцибельных систем, зависящей от клинических характеристик патологического процесса.
2. Наибольшие изменения отмечаются у детей с язвенной болезнью желудка, у которых выявлены низкие показатели оксида азота сыворотки крови и высокий уровень продукции белков теплового шока семейства HSP – 70 в лимфоцитах, подвергнутых тепловой обработке.
3. Отличительными особенностями язвенной болезни двенадцатиперстной кишки являются сниженные значения оксида азота в совокупности с синтезом стресс-белков у пациентов с множественными дефектами слизистой оболочки и повышение продукции метаболитов оксида азота при отсутствии реакции белков теплового шока в случае единичных язв.
4. При гастроэзофагеальной рефлюксной болезни реакция стресс-индуцибельных систем зависит от наличия эрозий пищевода, характера рефлюкса и касается только продукции оксида азота при единичном случае синтеза белков теплового шока. Неэрозивные варианты отличаются значительно более высокими значениями оксида азота как по сравнению с нормой, так и эрозивным эзофагитом, а билиарный рефлюкс характеризуется низким содержанием данного метаболита.

5. Для детей с хроническим эрозивным гастродуоденитом не характерны изменения показателей оксида азота и белков теплового шока.
6. Инфицированность пилорическим хеликобактером оказывает существенное влияние на реакцию индуцибельных систем, главным образом, на уровне белков теплового шока, пятикратно повышая вероятность их продукции. При идентификации *H. pylori* отмечено явное нарастание синтеза метаболитов оксида азота только у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, а случаи множественных дефектов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки с обнаружением данного микроорганизма характеризуются низкими показателями данных метаболитов.
7. В зависимости от нозологии увеличение давности патологического процесса различным образом влияет на реакцию стресс-индуцибельных систем: продукция белков теплового шока снижается при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а содержание оксида азота нарастает в случае гастроэзофагеальной рефлюксной болезни.
8. По мере наступления ремиссии хронической патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта происходит нормализация изучаемых показателей – модуляция содержания метаболитов оксида азота, а также прекращение либо снижение синтеза белков теплового шока.
9. Разнонаправленный характер показателей значений оксида азота и белков теплового шока свидетельствует о наличии саморегулирующих систем в процессе адаптации к стрессорным воздействиям этиопатогенетических факторов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У детей с патологией верхних отделов пищеварительной системы результаты динамического определения метаболитов оксида азота в

сыворотке крови и продукции белков теплового шока в прогретых лимфоцитах периферической крови могут быть использованы в качестве дополнительных дифференциально-диагностических критериев, а также показателей, отражающих активность заболеваний.

2. У детей с клиническими признаками гастроэзофагеальной рефлюксной болезни низкие показатели оксида азота с большой вероятностью свидетельствуют об эрозивном эзофагите, а высокие их значения характерны для ных забросов в вышележащие отделы пищеварительного тракта. Нарастание показателей оксида азота при эрозивном эзофагите до величин, превышающих нормативы, является показанием для проведения биопсии для исключения изменений слизистой оболочки, характерных для [пищевода Барретта](#).
3. Низкие показатели метаболитов оксида азота и положительные результаты определения белков теплового шока являются дополнительным лабораторным признаком язвенной болезни желудка и множественных дефектов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.
4. В случае отрицательных результатов определения белков теплового шока вероятность отклонений в содержании метаболитов оксида азота от показателей здоровых детей крайне низка.
5. Одним из преимуществ включения в комплексную терапию заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта ингибиторов протонной помпы является стимулирующее влияние на продукцию метаболитов оксида азота с ускорением темпов их нормализации. Разработка препаратов, способных компенсировать недостаток оксида азота и не затрагивающих в виде побочных эффектов регуляторные функции индуцибельных систем, является перспективным направлением в лечении заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ю.Б.Соколова, Н.К.Шумейко, Н.Б. Серебровская , И.С. Стрижова, Е.В. Губанова . Методы определения *H. Pylori* при гастроэнтерологической патологии у детей (печатная и доклад) // Пятый Российский научный форум с международным участием "Санкт-Петербург-Гастро-2003" (Гастроэнтерологические аспекты врачебной практики), Санкт-Петербург, 2003- С.134 .
2. Ю.Б.Соколова, Н.К.Шумейко, Н.В.Сорокина, Е.В.Губанова, С.Р. Емелина. Сравнительная характеристика методов определения хеликобактериоза у детей с заболеваниями верхних отделов ЖКТ (печатная и доклад) // Шестой Российский научный форум с международным участием "Санкт-Петербург-Гастро-2004" (Гастроэнтерологические аспекты врачебной практики), Санкт-Петербург, 2004 – С. 453.
3. Е.В.Злыгарева, Н.К.Шумейко, Н.Б.Серебровская, Ю.Б.Соколова , И.С.Стрижова, Н.А.Попова. Оценка показателей суточного рН-мониторинга у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью». Шестой Российский научный форум с международным участием «Санкт-Петербург-Гастро-2004» (Гастроэнтерологические аспекты врачебной практики), Санкт-Петербург, 2004 - С.278.
2. Н.Б.Серебровская, Н.К.Шумейко, Ю.Б.Соколова, Е.В.Губанова, И.С.Стрижова. Эффективность применения растительно-витаминного комплекса «Марина» при хронических запорах у детей». Материалы 12 конгресса детских гастроэнтерологов России. Москва, 2005.
3. Ю.Б.Соколова, Н.Б.Серебровская, Н.К.Шумейко, Е.В.Губанова, С.Р.Емелина. Значение оксида азота у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно- кишечного тракта. 7 Российский научный форум с международным участием «Санкт-Петербург-Гастро-2005»

(Гастроэнтерологические аспекты врачебной практики), Санкт-Петербург, 2005.

[4.Т.Г.Завикторина, Н.К.Шумейко, Е.В.Стрига, Ю.Б.Соколова, Ю.Л.Солдатский. Особенности течения гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у детей. // Медицинский научно-практический журнал «Лечащий врач», №7, 2008, с.88-90.](#)

5. Т.Г.Завикторина, Н.К.Шумейко, Е.В.Стрига, Ю.Б.Соколова, Ю.Л.Солдатский, В.И.Кириллов, Н.Б.Серебровская. Особенности течения ГЭРБ у детей с заболеваниями верхних дыхательных путей. //Медицинский научно-практический журнал «Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология» №7, 2008, с.104-110.

6. Ю.Б.Соколова, В.И.Кириллов, Н.К.Шумейко, Н.Б.Серебровская, Т.Г.Завикторина, И.С.Стрижова, С.Р.Емелина, Л.В.Дунина. Белки теплового шока у детей с хронической гастроэнтерологической патологией. // Актуальные вопросы педиатрии. Сборник материалов конференции. Калининград 2009г. с.132.

7. Н.К.Шумейко, Ю.Б.Соколова, В.И.Кириллов, Н.Б.Серебровская, И.С.Стрижова. Взаимосвязь уровня метаболитов оксида азота и хеликобактерной инфекции у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта. // Материалы 13-го Славяно-Балтийского форума «Санкт-Петербург-Гастро-2011» С.103.

Доклады

1. Н.К.Шумейко, Ю.Б. Соколова, Н.Б. Серебровская, Е.В. Злыгарева, И.С.Стрижова, Н.А.Попова. Оценка показателей суточного рН-мониторинга у детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. // Шестой Российский научный форум с международным участием «Санкт-Петербург-Гастро-2004».

2. Н.К.Шумейко, Ю.Б. Соколова, Н.Б. Серебровская, Е.В. Губанова, С.Р. Емелина. Значение оксида азота у детей с заболеваниями верхних

отделов желудочно-кишечного тракта. // Седьмой Российский научный форум с международным участием «Санкт-Петербург-Гастро-2005».

3.Н.К.Шумейко, Н.Б.Серебровская, Н.В.Сорокина, Л.В. Дунина, Ю.Б.Соколова. Ранние проявления метаболического синдрома у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. // Десятый Юбилейный Славяно-Балтийский форум «Санкт-Петербург-Гастро-2008».

4.Ю.Б.Соколова, Н.К.Шумейко, В.И. Кириллов, Н.Б.Серебровская. Связь реакции белков теплового шока с метаболитами оксида азота у детей с хронической патологией верхних отделов пищеварительной системы. // Славяно-Балтийский научный форум «Санкт-Петербург-Гастро-2010».

5.Н.К.Шумейко, Ю.Б.Соколова, В.И. Кириллов, Н.Б.Серебровская, И.С. Стрижова. Взаимосвязь уровня метаболитов оксида азота и хеликобактерной инфекции у детей с заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта. // Материалы 13-го Славяно-Балтийского форума «Санкт-Петербург-Гастро-2011» - С.103.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БТШ - белки теплового шока

ГЭР - гастроэзофагеальный рефлюкс

ГЭРБ - гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

НЭРБ - неэрозивная гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

кГЭР- кислотный гастроэзофагеальный рефлюкс

нкГЭР- некислотный гастроэзофагеальный рефлюкс

сГЭР- смешанный гастроэзофагеальный рефлюкс

НЭРБ - неэрозивная гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь

ОА - оксид азота

ПБ - пищевод Барретта

СБ - стресс-белки

СИС - стресс-индуцибельные системы

ХЭГД - хронический эрозивный гастродуоденит

ЭФГДС - эзофагофиброгастродуоденоскопия

ЯБДПК - язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки

ЯБЖ - язвенная болезнь желудка

Нр - helicobacter pylori (хеликобактер пилори)

HSP - hot shock proteins (белки теплового шока)

NO - nitric oxide (оксид азота)

[Библиотека литературы по функциональной гастроэнтерологии:
http://www.gastroscan.ru/literature/](http://www.gastroscan.ru/literature/)