

Е.В. Кривигина¹, Г.Ф. Жигаев^{1, 2}**О ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ЛЕЙКОЦИТАМИ И ИХ РОЛИ
В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**¹ Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)² Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко (Улан-Удэ)

Некоторые формы лейкоцитов могут активировать перекисное окисление липидов. В результате происходит повреждение мембран клеток. При хронических гастроудоденальных заболеваниях также запускается данный процесс, что подтверждается в данной статье.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, хронические гастроудоденальные заболевания

**ABOUT GENERATION OF PROACTIVE FORMS OF OXYGEN BY LEUKOCYTES
AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC GASTRODUODENAL DISEASES**E.V. Krivigina¹, G.F. Zhigaev^{1, 2}¹ Buryat State University, Ulan-Ude² Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko, Ulan-Ude

Some forms of leukocytes can activate lipid peroxidation. It causes injuries of cells' membranes. At chronic gastroduodenal diseases this process also starts that is proved in the article.

Key words: lipid peroxidation, chronic gastroduodenal diseases

В последние годы в литературе широко обсуждается роль *Helicobacter pylori* в развитии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и желудка [9]. Частота сочетания язвенной болезни с гастритом и гастроудоденитом весьма высока [1]. Так, известно, что важнейшими клетками, участвующими в воспалительном процессе, являются лейкоциты, в особенности гранулоциты и моноциты (фагоциты). Именно фагоциты в высокой степени способны генерировать активные формы кислорода (АФК): перекись водорода (H₂O₂), гидроксильный радикал (·OH), синглетный кислород (·O₂). Доказано, что АФК способны оказывать повреждающее мембраны клеток действие посредством стимуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) [11].

Поэтому теоретически обосновано предположение о роли АФК, генерируемых лейкоцитами, в патогенезе язвенной болезни.

Настоящая работа посвящена проверке этого предположения путем изучения взаимосвязи изменений генерации АФК лейкоцитами с показателями клинической картины хронических гастроудоденальных заболеваний.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами обследовано 102 больных язвенной болезнью и хроническим гипоацидным гастритом (ХГГ) и 30 здоровых доноров. В группе больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки мужчин — 49, женщин — 13; возраст больных в среднем составил 42,2 ± 2,4 года. В группе больных язвенной болезнью желудка мужчин — 21, женщин — 1; возраст — от 31 года до 66 лет, в среднем — 45,8 ± 1,9 года. Среди больных ХГГ женщин — 13, мужчин — 5; средний возраст — 42,3 ± 2,9 года.

В группе больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки длительность анамнеза варьировала от 1 года до 22 лет и в среднем составила 10,6 ± 1,6 года; в группе больных язвенной болезнью желудка — от 1 года до 16 лет, в среднем — 8,0 ± 1,8 года; в группе больных ХГГ — от 1 года до 24 лет, в среднем — 11,3 ± 2,1 года.

По характеру течения язвенной болезни мы выделили 2 группы: с частыми обострениями (чаще 2 раз в год) и с более редкими обострениями заболевания (2 раза в год и реже). В группе больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки частые обострения отмечали у 32 человек, более редкие — у 30, в группе больных язвенной болезнью желудка — у 5 и 17 человек соответственно.

У всех больных диагноз обострения язвенной болезни подтвержден эндоскопически. Отмечали не только наличие, локализацию, размер, характер язвенного повреждения, но и наличие фоновых заболеваний: катаральных или эрозивных гастритов, дуоденитов. Больным ХГГ также проводили эндоскопию.

В группе больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки размер язвы (в поперечнике) варьировал от 0,3 до 1,2 см (0,7 ± 0,08 см), в группе больных язвенной болезнью желудка — от 0,6 до 2,3 см (0,99 ± 0,12 см).

У 41 из 62 больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и у 17 из 22 больных язвенной болезнью желудка отмечали наличие язвы без сопутствующего катарального или эрозивного гастрита, дуоденита.

У всех больных до начала лечения исследовали желудочную секрецию (ЖС) с субмаксимальной стимуляцией гистамином (Ю.И. Фишзон-Рысс, 1972). Желудочная секреция у больных язвенной

болезнью двенадцатиперстной кишки резко повышена по сравнению с нормальными цифрами, у больных язвенной болезнью желудка — практически не отличается от нормы, у больных ХГГ — понижена (дебит-час секреции свободной соляной кислоты в стимулированную фазу, соответственно, $22,5 \pm 4,5$, $9,0 \pm 1,5$ и $3,6 \pm 0,9$ Мэкв/ч; в норме — $6,5 - 12,0$ Мэкв/ч).

Использованы следующие лабораторные методики: выделение лейкоцитов из цельной крови, приготовление «рабочей» взвеси зимозана и его опсонизация [2], окраска и дифференциальный подсчет лейкоцитов (Коган А.П. ис соавт.); исследование генерации АФК лейкоцитами (ГАФКЛ) методом люминозависимой хемилюминесценции с использованием хемилюминометра «LKB-WALLAC-1251».

При 25°C измеряли свечение пустых чистых пробирок (контроль чистоты пробирок). Помещали в каждую из пробирок по 0,3 мл взвеси лейкоцитов, содержащей 300 тыс. фагоцитов (гранулоцитов и моноцитов). Измеряли свечение — спонтанную хемилюминесценцию клеток. Добавляли в пробирки по 0,02 мл 0,0001 М водного раствора люминола с $\text{pH} = 7,35$. Измеряли хемилюминесценцию каждые 10 — 15 с до выхода свечения на «плато», что происходило обычно в течение 5 — 7 мин после добавления люминола. Хемилюминесценции лейкоцитов, измеренная в таких условиях, характеризовала ГАФКЛ покоящихся клеток — это базальная хемилюминесценция. При 37°C повторяли первые 3 операции. Добавляли в одну пробирку 0,02 мл взвеси опсонизированного зимозана (опыт), в другую — 0,02 мл неопсонизированного зимозана (контроль). Измеряли хемилюминесценцию через каждые 10 — 15 с до выхода на «плато» — это стимулированная хемилюминесценция. Рассчитывали интенсивный показатель: показатель интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов (ПИХЛ) — базальной и стимулированной — по формуле: $\text{ПИХЛ} = \text{максимальные цифры хемилюминесценции} / \text{количество фагоцитов в исследуемом объеме} \times 10^6$.

Коэффициент 10^6 введен вследствие малой исходной величины ПИХЛ. Рассчитывали соотношение стимулированной опсонизированным зимозаном и базальной хемилюминесценции лейкоцитов (ПИХЛс / ПИХЛб), отражающее степень активации клеток при их метаболической перестройке.

В контрольных опытах при стимуляции лейкоцитов неопсонизированным зимозаном хемилюминесценция оставалась неизменной или увеличивалась сравнительно немного — не более чем в 1,5 раза; при стимуляции лейкоцитов опсонизированным зимозаном она увеличивалась в 3,2 — 11,2 раза, в среднем — в 8,3 раза.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У здоровых доноров средняя величина ПИХЛ составила $49,7 \pm 17,1$ мВ/с/1 млн лейкоцитов, у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки — $172,0 \pm 23,4$ мВ/с/1 млн лейкоци-

тов, у больных язвенной болезнью желудка — $103,1 \pm 15,7$ мВ/с/1 млн лейкоцитов, у больных ХГГ — $43,3 \pm 10,6$ мВ/с/1 млн лейкоцитов. Таким образом, у больных с обострением язвенной болезни двенадцатиперстной кишки до лечения наблюдается закономерное повышение ПИХЛ по сравнению с измеренным у доноров ($p < 0,01$); у больных с обострением язвенной болезни желудка также отмечается значимое повышение ПИХЛ по сравнению с таковым у доноров ($p < 0,01$), однако в меньшей степени, чем при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки; у больных ХГГ ПИХЛ существенно не отличается от измеренного у доноров.

Повышение уровня ГАФКЛ при обострении язвенной болезни может быть объяснено описанным J.M. McCord et al. феноменом усиления ГАФКЛ при воспалении, так как известно, что существование язвенного дефекта слизистой, как правило, сопровождается воспалением [8].

Показатели базальной и стимулированной ГАФКЛ исследованы (при 37°C) у 10 здоровых доноров и у 22 больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. В группе доноров средние величины ПИХЛ составили: ПИХЛб — $160,2 \pm 27,2$ мВ/с/1 млн лейкоцитов, ПИХЛс — $1321,7 \pm 167,8$ мВ/с/1 млн лейкоцитов, их соотношение — 8,25; в группе больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки — соответственно, $506,4 \pm 63,4$ и $4293,0 \pm 669,4$ мВ/с/1 млн лейкоцитов, их соотношение — 8,5. Эти факты свидетельствуют о наличии достаточно четкой корреляции между базальной и стимулированной ГАФКЛ.

При сопоставлении длительности анамнеза язвенной болезни и ХГГ и уровня ПИХЛ до лечения было показано, что имеется тенденция к усилению ГАФКЛ при увеличении длительности существования заболеваний. При анализе зависимости ПИХЛ от частоты обострений язвенной болезни установлено, что у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с обострениями заболевания чаще 2 раз в год уровень ПИХЛ ($207,8 \pm 35,0$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) достоверно выше, чем у больных с более редкими обострениями заболевания ($133,9 \pm 24,2$ мВ/с/1 млн лейкоцитов).

У больных язвенной болезнью желудка также отмечается тенденция к повышению уровня ПИХЛ при частых (чаще 2 раз в год) обострениях заболевания. Отсутствие достоверного различия между ПИХЛ у больных язвенной болезнью желудка с более частыми ($144,0 \pm 80,5$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) и более редкими обострениями заболевания ($96,5 \pm 14,3$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) связано, вероятно, с малым числом наблюдений в группе больных язвенной болезнью желудка с частыми обострениями заболевания ($n = 3$). Более высокий уровень ГАФКЛ у больных с более частыми обострениями язвенной болезни связан, возможно, с изменениями про-/антиоксидантного статуса, что в конечном счете приводит к поражению слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [5]. Действительно, у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в стадии обострения сни-

жаются активность ферментных и неферментных антиоксидантных систем и усиливаются процессы ПОЛ [4]. Некоторые продукты ПОЛ, в частности, эндоперекиси арахидоновой кислоты, являются мощными индукторами ГАФКЛ [7]. Установлено, что при обострении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки концентрация эндоперекисей арахидоновой кислоты в сыворотке крови больных повышается [4, 6].

При исследовании зависимости ПИХЛ от размеров язвенного дефекта слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и желудка обнаружено, что у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с большими размерами язв — 1,1–1,5 см — отмечается наиболее высокое свечение ($245,5 \pm 21,4$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) по сравнению с измеренным в 2 подгруппах больных с меньшими размерами язв — до 0,5 см и от 0,5 до 1,0 см (соответственно, $166,6 \pm 30,2$ и $174,6 \pm 13,1$ мВ/с/1 млн лейкоцитов; $p < 0,05$). Зависимость нарастания ПИХЛ от размеров язвы двенадцатиперстной кишки, вероятно, отчасти по аналогии с нарастанием ПИХЛ при обострении язвенной болезни может быть объяснена размерами площади периульцерозного воспаления.

Напротив, у больных язвенной болезнью желудка с максимальным размером язвы — больше 1,6 см — отмечается выраженное снижение ПИХЛ ($81,5 \pm 10,2$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) по сравнению с измеренным в 2 подгруппах больных с меньшими размерами язв — от 0,5 до 1,0 см и от 1,1 до 1,5 см (соответственно, $127,5 \pm 25,2$ и $131,6 \pm 26,9$ мВ/с/1 млн лейкоцитов; $p < 0,05$). В данном случае можно думать о метаболическом «истощении» активности лейкоцитов (по генерации АФК) у больных язвенной болезнью желудка с максимальным размером язвенного дефекта. Следовательно, взаимосвязь между активностью лейкоцитов и площадью язвенного поражения при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки различна.

При исследовании уровня ПИХЛ в зависимости от локализации язв обнаружено достоверное повышение уровня ПИХЛ у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с локализацией язв на обеих стенках луковицы ($232,4 \pm 32,1$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) по сравнению с исследованным у больных с локализацией язвы на одной стенке луковицы — передней ($152,0 \pm 11,3$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) или задней ($165,7 \pm 23,7$ мВ/с/1 млн лейкоцитов). Можно предполагать, что более высокий уровень ПИХЛ у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с локализацией язв на обеих стенках луковицы связан с увеличением суммарной площади язвенного дефекта. У больных язвенной болезнью желудка с локализацией язвы в пилорическом канале ПИХЛ ($103,1 \pm 15,7$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) достоверно выше, чем у больных с локализацией язвы в теле желудка ($83,8 \pm 9,9$ мВ/с/1 млн лейкоцитов).

Не выявлено существенного различия между уровнем ПИХЛ у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с наличием или отсут-

ствием сопутствующего катарального и эрозивного гастродуоденита (соответственно, $171,5 \pm 29,2$ и $173,1 \pm 39,2$ мВ/с/1 млн лейкоцитов); однако у больных язвенной болезнью желудка такое различие ($92,1 \pm 14,8$ и $177,3 \pm 57,8$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) было достоверным.

Исследование уровня ПИХЛ в зависимости от наличия атрофического гастрита у больных язвенной болезнью желудка показало, что в случае гастрита ПИХЛ ($71,6 \pm 19,3$ мВ/с/1 млн лейкоцитов) достоверно ниже, чем у больных с неизменной слизистой оболочкой ($136,5 \pm 33,2$ мВ/с/1 млн лейкоцитов).

Более высокий уровень ПИХЛ у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, чем у больных язвенной болезнью желудка, более высокий его уровень у больных язвенной болезнью желудка с локализацией язвы в пилорическом канале, у больных язвенной болезнью желудка с наличием сопутствующего эрозивного гастрита позволяют предположить, что вовлечение в патологический процесс слизистой оболочки антральнопилородуоденальной зоны активирует лейкоциты в большей степени, чем поражение слизистой тела желудка. Возможно, это связано с различием концентраций некоторых гормоноидов, образующихся в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки у больных язвенной болезнью.

Важным представлялось оценить зависимость между уровнем ПИХЛ и показателями ЖС, исследованными до лечения. При язвенной болезни двенадцатиперстной кишки высокий уровень секреции, как правило, сочетается с высоким уровнем ПИХЛ (у 55 из 62 больных — 88,7%). У всех больных язвенной болезнью желудка с повышением ЖС отмечался высокий уровень ПИХЛ. Нормальный уровень ЖС у больных язвенной болезнью желудка сочетался как с высокими, так и с нормальными значениями ПИХЛ, но никогда не со снижением ПИХЛ. Пониженный уровень ПИХЛ встречался только у больных ХГГ.

Связь между уровнем ПИХЛ до лечения и уровнем ЖС может быть предположительно обусловлена тем, что биологически активные вещества, такие, как ацетилхолин, гастрин, гистамин (являющиеся стимуляторами ЖС), *in vivo* способны модулировать процесс ГАФКЛ [14]. Е.Г. Гладышева [3] показала, что гистамин при парентеральном введении одновременно (у части больных) вызывает стимуляцию ЖС и ГАФКЛ.

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что нарастание ГАФКЛ при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и желудка в 1,7–2,5 раза ($p < 0,05$), взаимосвязь между тяжестью течения, размерами язвы и ГАФКЛ участвуют в патогенезе язвенной болезни. Это предположение согласуется с экспериментальными данными американских авторов, показавших, что ингибирование генерации АФК с помощью аллопуринола и супероксиддисмутазы [II] резко тормозит развитие язвенных дефектов слизистой оболочки желудка, вызываемых острой кровопотерей и ишемией [10].

Нами выдвинута гипотеза о двоякой роли ГАФКЛ в развитии язвенной болезни: патогенетической и саногенетической [5]. Подтверждением патогенетической роли являются вышеперечисленные клинические и экспериментальные данные.

Саногенетическая роль ГАФКЛ подтверждается в определенной степени данными об участии АФК в очищении региона язвы от детрита, без чего невозможно быстрое рубцевание [8], об участии АФК в синтезе простагландинов, дающих антиульцерогенный эффект [3], об их участии в микробоцидной фазе фагоцитоза [7], о высокой терапевтической ценности метода гипербарической оксигенации, усиливающего ГАФКЛ, при язвенной болезни [6].

ВЫВОДЫ

1. У больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и желудка в стадии обострения показатель интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов (ПИХЛ) повышен в 2,5 раза по сравнению с таковым у здоровых доноров ($p < 0,01$). У больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки ПИХЛ повышен в большей степени, чем у больных язвенной болезнью желудка, — в 1,7 раза ($p < 0,05$). У больных хроническим гипоацидным гастритом ПИХЛ не отличается от измеренного у доноров.

2. Существует взаимосвязь между уровнем ПИХЛ у больных язвенной болезнью в стадии обострения (до лечения) и рядом клинических особенностей заболеваний: тяжестью течения язвенной болезни, максимальным размером язв, наличием сопутствующей патологии желудочно-кишечного тракта (у больных язвенной болезнью желудка). ПИХЛ возрастает при увеличении частоты обострений язвенной болезни, размеров язвы двенадцатиперстной кишки и снижается у больных язвенной болезнью желудка, протекающей на фоне атрофического гастрита.

3. Существует взаимосвязь между ПИХЛ у больных язвенной болезнью в стадии обострения, хроническим гипоацидным гастритом и показателями желудочной секреции. При высокой желудочной секреции встречаются повышенные значения ПИХЛ, при нормальной желудочной секреции — только нормальные или повышенные, при по-

ниженной желудочной секреции — нормальные или пониженные.

4. Полученные данные в целом аргументируют предположение о патогенетической и саногенетической роли активных форм кислорода в развитии язвенной болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов А.Н. Роль биологической стимуляции регенерации в защите кишечных анастомозов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1993. — 21 с.
2. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. — М.: Триада-Х, 1998. — 483 с.
3. Аскерханов Г.Р., Загиров У.З., Гаджиев А.С. Болезни оперированного желудка. — М.: Медпрактика, 1999. — 152 с.
4. Далидович К.К. Клиническое значение перекисного окисления липидов слизистой оболочки желудка при гастродуоденальной патологии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1990. — 27 с.
5. Исаев Г.Б. Роль Нр в клинике язвенной болезни // Хирургия. — 2004. — № 4. — С. 64–68.
6. Лаврик А.С., Тывончук А.С., Терешкевич И.С. Особенности моторно-эвакуаторной функции культи желудка после реконструкции по Ру // Вест. хир. гастроэнтерологии. — 2006. — № 1. — С. 41.
7. Лебедев Н.Н., Курыгин А.А. Лечение пептических язв желудочно-кишечных соустьев // Вест. хирургии. — 1998. — № 3. — С. 33–38.
8. Черноусов А.Ф., Богопольский П.М., Курбанов Ф.С. Хирургия язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. — М., 1996. — 256 с.
9. Щербатых А.В., Кулинский В.И., Большапов А.А., Соколова С.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система при язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки и постгастрорезекционных синдромах // Сиб. мед. журнал. — 2005. — Т. 52, № 3. — С. 9–13.
10. Eagon J.C., Miedema B.W., Kelly K.A. Postgastroectomy syndromes // Surg. Clin. J. North Am. — 1992. — Vol. 72, N 2. — P. 445–465.
11. Lauwers G.Y., Ban S., Mino M. Endoscopic mucosal resection for gastric epithelial neoplasms: A study of 39 cases with emphasis on the evaluation of specimens and recommendations for pathologic analysis // Modern. pathol. — 2004. — Vol. 17. — P. 2–8.

Сведения об авторах

Кривигина Елена Владимировна — кандидат медицинских наук, врач-эндоскопист Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко.

Жигаев Геннадий Федорович — доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры госпитальной хирургии Бурятского государственного университета, консультант Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко (670047, г. Улан-Удэ, ул. Павлова, 12, тел.: 8 (3012) 23-36-24).